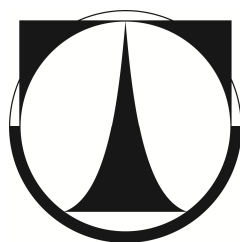


TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
FAKULTA TEXTILNÍ



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Liberec 2011

Tereza Matoušková

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
FAKULTA TEXTILNÍ
KATEDRA NEKANÝCH TEXTILIÍ



Studijní program: M3106 Textilní inženýrství

Studijní obor: Netkané textilie

VÝVOJ SPECIÁLNÍCH ELEKTROSTATICKY
ZVLÁKNĚNÝCH SCAFFOLDŮ S VYUŽITÍM
UHLÍKOVÝCH NANOTRUBIC

DEVELOPMENT OF SPECIAL ELECTROSPUN
SCAFFOLDS WITH THE USE OF CARBON
NANOTUBES

Vedoucí diplomové práce

Ing. Eva Košťáková

Autor

Tereza Matoušková

VLOZIT ORIGINAL/KOPII ZADANI DP

PROHLÁŠENÍ

Byl(a) jsem seznámen(a) s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom(a) povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval(a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

Datum

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Ing. Evě Košťákové za odborné vedení práce a poskytnutí cenných rad a podnětů, jakož i poskytnutí odborných zahraničních publikací. Zároveň bych chtěla poděkovat Ing. Pavlu Pokornému za asistenci a odborný dohled při zvlákňování. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat Ing. Josefu Hasmanovi za připomínky a náměty k sazbě mé diplomové práce.

ANOTACE

Diplomová práce se věnuje výrobě speciálních nanovláknenných (elektrostaticky zvlákněných) scaffoldů s využitím uhlíkových nanotrubic pro možné budoucí použití při rekonstrukci nervové tkáně. Vláknenný materiál by měl být dobře snášen biologickým prostředím, ve kterém bude aplikován, a zároveň by měl být schopný rozkladu bez vzniku toxických látek. Zakombinované uhlíkové nanotrubičky zajišťují vodivost scaffoldů. V diplomové práci jsou použité dva druhy elektrostatického zvláknění – z volné hladiny a z trysky. Výsledné scaffoldy jsou vyhodnoceny pomocí směrové růžice a Ramanovy spektroskopie.

KLÍČOVÁ SLOVA

Scaffold, uhlíkové nanotrubičky, polycaprolakton, elektrostatické zvláknění, tkáňové inženýrství, nervová tkáň

ANNOTATION

The thesis is focused on special nanofibrous (electrospun) scaffolds production with the use of carbon nanotubes for possible future usage in nerve tissue reconstruction. The fibrous material should be stood well by the biological environment where it will be applied along with the fact it should be able to decay without creating toxic products. Embed carbon nanotubes ensure scaffolds' conductivity. Two types of electrospinning procedures are used in the thesis – from free surface and from jet. Final scaffolds are analyzed with direction rose and Raman Spectroscopy.

KEY WORDS

Scaffold, carbon nanotubes, polycaprolactone, electrospinning, tissue engineering, nerve tissue

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ:

AFM Atom Force Microscopy, mikroskopie atomárních sil
 Al_2O_3 safír, monokrystal oxidu hlinitého
Ar argon
bc-MWNT struktura bambusu pro soustřednou mnohostěnnou uhlíkovou nanotrubicí
bh-MWNT struktura bambusu pro mnohostěnnou uhlíkovou nanotrubicí rybí kost
Br brom
 C_2H_2 acetylén
 C_2H_4 etylén, ethen
 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ glukóza
 C_6H_6 benzen
CCVD catalytic chemical vapor deposition, katalyzovaná chemická depozice par
 CH_3COONa octan sodný
 $\text{CH}_3\text{-CO-CCl}_3$ trichloraceton
 $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$ aceton
 CH_3COOH kyselina octová
 $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ethanol
 CH_3CHO acetaldehyd
 CH_4 methan
 CHCl_3 trichlormethan, chloroform
Cl chlor
c-MWNT concentric MWNT, soustředná MWCNT
cnt count, jednotka
CNTs carbon nanotubes, uhlíkové nanotrubicí
Co kobalt
CO oxid uhelnatý
COOH karboxylová kyselina
co-PET ko-polyethylén tereftalát
CSCNTs plněné uhlíkové nanotrubicí
CVD chemical vapor deposition, chemická depozice par
 C_xH_y obecný vzorec plynného uhlovodíku
DCM dichlormetan
DMF dimetylformamid

DWNT double-wall carbon nanotube, dvoustěnná uhlíková nanotrubičice

EEG elektroencefalografie

EMG elektromyografie

F fluor

Fe železo

FP Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická

FSV – ČVUT Fakulta stavební České vysoké učení technické

FT Fakulta textilní

H₂ vodík

H₂O voda

H₃PO₄ kyselina trihydrogenfosforečná

He helium

HFP 1,1,1,3,3,3 hexafluoroisopropanol

hm. % hmotnostních procent

h-MWNTs herringbone texture, rybí kost

HSPET high shrinkage polyethylene terephthalate, vysoce srážlivý polyethylén tereftalát

I jód

IČ infračervené záření

KNT Katedra netkaných textílií

KTM Katedra textilních materiálů

MgAl₂O₄ hlinitan hořečnatý

MgO oxid hořečnatý

Mn číselná molekulová hmotnost

MWNTs, MWCNTs MultiWalled (Carbon) NanoTubes, mnohostěnné uhlíkové nanotrubičice

MWCNTs 3100 tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičice

MWCNTs 3101 tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičice s povrchovou úpravou COOH

MWCNTs 3150 krátké tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičice

MWCNTs 3151 krátké tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičice s povrchovou úpravou COOH

MWCNTs 3152 krátké tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičice s povrchovou úpravou NH₂

MWCNTs 3152 US krátké tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky s povrchovou úpravou NH_2 rozmíchané sonotrodou

MWCNTs 7000 mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky s malou velikostí a vysokým poměrem stran

MWCNTs 7000 US mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky s malou velikostí a vysokým poměrem stran rozmíchané sonotrodou

NaClO chlornan sodný

NaOH hydroxid sodný

NH_2 amin

Ni nikl

OH alkohol

P(LA-CL) kopolymer polymléčné kyseliny a polykaprolaktonu

PA polyamid

PAN polyakrylonitril

PAN-MA poly(akrylonitril-ko-methylakrylát)

PASA poly(anilin sírová kyselina

PCL polykaprolakton

PCLEEP poly(e-kaprolakton-ko-etyl-etylenfosfát)

PDS polydioxanon

PE polyethylen

PEDT poly(3,4-ethylenedioxythiophen)

PEO polyethylen oxid

PET polyethylen tereftalát

PGA kyselina glykolová

PHB poly(3-hydroxybutyrát)

PHBV poly(3-hydroxybutyrát-ko-3-hydroxyvalerát)

PLA kyselina mléčná

PLGA poly(D,L-mléčná-ko-glykolická kyselina)

PLLA poly(L-mléčná) kyselina

PMMAAA kopolymer metyl metakrylátu (MMA) a akrylové kyseliny (AA)

PP polypropylen

PřF UK Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

PSS polystyren sulfonát

PSU polysulfon

PTFE polytetrafluorethylen

PTT polytrimethylén tereftalát

PVA polyvinylalkohol

PVP polyvinylpyrolidon

ROP ring-opening polymerization, polymerizace otevřením kruhu

Rpm rounds per minute, otáčky za minutu

SEM skenovací elektronová mikroskopie

SiO₂ oxid křemičitý

SPM mikroskopie skenování sondou

SWNTs, SWCNTs, SWCNTs 1100 SingleWalled (Carbon) NanoTubes, jednostěnné uhlíkové nanotrubičky

TEM transmisní elektronová mikroskopie

TFA kyselina trifluoroctová

Tg teplota zesílnění

THF tetrahydrofuran

TiO₂ oxidu titaničitý

Tm teplota tání

TUL Technická univerzita v Liberci

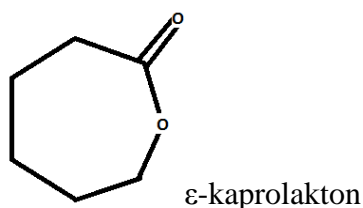
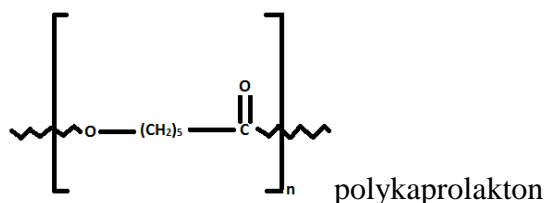
ÚEM AVČR Ústav Experimentální Medicíny Akademie věd České Republiky

VUTB Vysoké učení technické v Brně

x, y násobky počtu atomů prvků v rovnici

ε-CL ε-kaprolakton

λ vlnová délka (ultrafialové záření)



Obsah

1. ÚVOD	11
2. TEORETICKÁ ČÁST	12
2.1 Elektrostatické zvlákňování	12
2.1.1 Druhy uspořádání elektrostaticky zvlákněných vláken	15
2.1.2 Způsoby výroby orientovaných elektrostaticky zvlákněných vláken	16
2.1.3 Kompozitní elektrostaticky zvlákněná nanovlákna	24
2.1.4 Koaxiální elektrostatické zvlákňování	28
2.2 Neurony a nervy	30
2.3 Uhlíkové nanotrubičky (Carbon NanoTubes = CNTs)	31
2.4 Tkáňové inženýrství	47
2.5 Vlastní rešeršní část	48
2.5.1 Výroba kompozitních nanovláken s CNTs	48
2.5.3 Výroba scaffoldů pro tkáňové inženýrství nervů	53
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	63
3.1 Použité materiály	63
3.1.1 Polykaprolakton (PCL)	63
3.1.2 Rozpouštědla	64
3.1.3 Uhlíkové nanotrubičky (CNTs)	66
3.2 Použité metody	68
3.2.1 Zvlákňování z tyčky (z volné hladiny)	69
3.2.2 Zvlákňování z injekční stříkačky (za pomoci tlaku)	70
3.2.3 Zvlákňování z injekční stříkačky (za pomoci tlaku) pro výrobu orientovaných nanovláken	71
3.3 Experimenty	72
3.3.1 Experiment 1	73
3.3.2 Experiment 2	78
3.3.3 Experiment 3	86
3.4 Výsledky a diskuse	98
3.4.1 Výsledky experimentu 1	98
3.4.2 Výsledky experimentu 2	99
3.4.3 Výsledky experimentu 3	99
3.4.4 Diskuse	102
4. ZÁVĚR	104
5. POUŽITÁ LITERATURA	105
6. SEZNAM PŘÍLOH	110

1. ÚVOD

Tkáňové inženýrství je jedním z nejaktuálnějších témat světové medicíny. Jeho pomocí by bylo možné řešit v současné době nevyléčitelná onemocnění a úrazy jako je rakovina, Parkinsonova choroba, cukrovka, infarkt myokardu, částečné nebo úplné ochrnutí a jiné. Jeho aplikace jsou různorodé, může se jednat jak o rekonstrukce (například míšní poranění), tak i o nahrazení části postižené tkáně (například implantace kolenní chrupavky). Některé výzkumy se již blíží ke klinickému testování hotových preparátů, jiné teprve hledají správný postup přípravy vhodného materiálu, který by usnadnil proces růstu požadovaných buněk. Jedním z těchto témat je i výroba scaffoldu (konstrukce podporující růst buněk a tkání) pro růst neuronů. Elektrostaticky vytvořené vlákenné a nanovláknenné vrstvy aplikované jako scaffoldy či nosiče v tkáňovém inženýrství jsou vyráběny zejména z biodegradabilních polymerů a kopolymerů, jako například z polymeru kyseliny glykolové – PGA, polymeru kyseliny mléčné – PLA, polyethylenoxidu – PEO, chitosanu, kolagenu, polykaprolaktonu – PCL atd. [1, 2].

Cílem této práce je vyrobit vlákenný, respektive nanovláknenný (elektrostaticky zvlákněný), elektricky vodivý scaffold, který by byl vhodný pro rekonstrukci nervové tkáně. Tento vlákenný materiál by měl být dobře snášen biologickým prostředím, ve kterém bude aplikován, a zároveň by měl být schopný, po předem definované časové periodě, rozkladu bez vzniku toxických látek. Elektrická vodivost vlákenného materiálu může být mimo jiné zajištěna uhlíkovými nanotrubicemi, které jsou vodivé a které se dají zakombinovat do biodegradabilních a biokompatibilních materiálů. Možné zdravotní riziko těchto nanotubic nebylo zatím s jistotou prokázáno, ale i přesto je nutné s touto možností do budoucna počítat [3]. Je potřeba vzít v úvahu i skutečnost, že možnost léčby vážných nervových onemocnění a úrazů, je v porovnání s případným výskytem léčbou vyvolaných onemocnění, akceptovatelným kompromisem. Teoretická část obsahuje vysvětlení základních pojmů týkajících se této diplomové práce. Experimentální část se pak přímo věnuje samotné přípravě scaffoldů s požadovanými vlastnostmi a jejich testování.

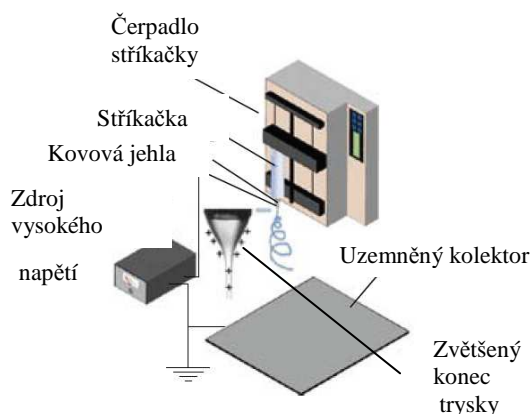
2. TEORETICKÁ ČÁST

Teoretická část je zaměřena na vysvětlení v této práci použitých pojmů, pojednává o postupech výroby a použitých materiálech. Je rozdělena do pěti částí zaměřených na: elektrostatické zvlákňování, nervy a neurony, uhlíkové nanotrubic, tkáňové inženýrství a vlastní řešeršní část.

2.1 Elektrostatické zvlákňování

Elektrostatické zvlákňování je relativně jednoduchou metodou výroby polymerních nanovláken. Nanomateriály jsou částice a struktury v měřítku 1 nm až 100 nm (10^{-9} až 10^{-7} metru), které jsou dostatečně malé na to, aby se v nich mohly projevovat kvantové jevy. Pro použití v této diplomové práci budeme hovořit o nanovlákních jako o vláknech s průměrem menším než 1 μm . [4]. Při určitých podmínkách zvlákňování, zejména při vhodné volbě páru zvlákňovaný polymer/rozpouštědlo, je možné vytvořit i vlákna silnější, a to v rozmezí 1-3 μm . Elektrostaticky vytvořené vlákenné a nanovláknenné vrstvy aplikované jako scaffoldy či nosiče v tkáňovém inženýrství jsou vyráběny zejména z biodegradabilních polymerů a kopolymerů, jako například z polymeru kyseliny glykolové – PGA, polymeru kyseliny mléčné – PLA, polyethylenoxidu – PEO, chitosanu, kolagenu, polykaprolaktonu – PCL a dalších [1, 5].

Technologie elektrostatického zvlákňování je známa již od začátku minulého století (Forhams, 1934), ale její hlavní nástup je datován na přelom 20. a 21. století. [1]. Obrázek 1 zobrazuje typické uspořádání elektrostatického zvlákňování, které se skládá ze tří hlavních komponent: zdroj vysokého napětí, nabíjený polymerní roztok či tavenina a elektricky vodivý kolektor. Na Obrázku 1 je tekutina (tavenina nebo roztok) pro zvlákňování dopravována do stříkačky dle předem daných specifických požadavků. Vždy je vhodné kontrolovat nebo řídit podmínky vnějšího prostředí (například vlhkost, teplotu a tlak).



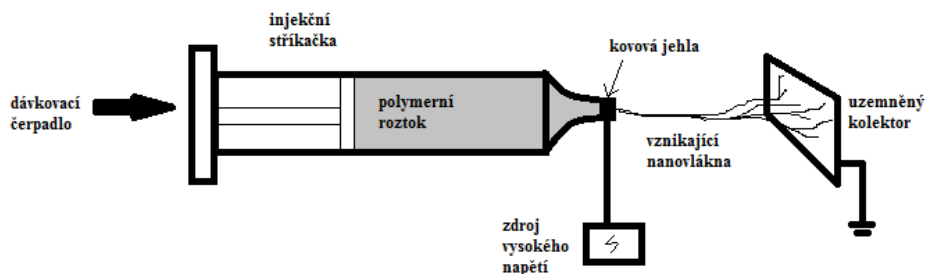
Obrázek 1 Schématické znázornění zařízení pro elektrostatické zvlákňování se zvětšeným koncem trysky. Roztok/tavenina polymeru je vytlačován čerpadlem do stříkačky, na kovovou jehlu je přiveden zdroj vysokého napětí. Roztok/tavenina polymeru vytlačovaný z jehly má kladný náboj a je dlužen v elektrickém poli. Vydložené vlákna dopadají na podkladový materiál umístěný na uzemněném kolektoru [6].

Podstatou elektrostatického zvlákňování je výroba plynulého proudu polymeru (roztoku nebo taveniny) a jeho dloužení v elektrickém poli. Nedávno bylo zjištěno, že je zajištění výroby nanovláken spíše výsledkem bičování proudu polymerního roztoku ve zvlákňovacím prostoru než jenom kolmému stříkání polymeru na kolektor. Nestabilita bičování je způsobena elektrostatickými interakcemi mezi vnějším elektrickým polem a povrchovým nábojem proudu. Dloužení nestabilního proudu tekutiny, během kterého si musí kapalná fáze udržet odpovídající viskoelasticitu, vede k vytvoření nanovláken. Elektrostaticky zvlákněná vlákna jsou mohem menší než vlákna vyráběná konvenčními zvlákňovacími technikami. Optimalizací vnitřních parametrů jako jsou vlastnosti roztoku (polarita, povrchové napětí, molekulární hmotnost, viskozita, elasticita, elektrická vodivost a další) a vnějšími podmínkami (pevnost elektrického pole, vzdálenost mezi tryskou a kolektorem, množství vytlačovaného polymeru), je elektrostatické zvlákňování schopné vyrábět vlákna o průměru desítek nanometrů. Elektrostaticky zvlákněná vlákna jsou ukládána obvykle na kolektor z vodivého materiálu s podkladovou netkanou textílií s antistatickou úpravou. Podkladové textílie (papír, netkaná textílie, tkanina) mohou mít náhodnou nebo uspořádanou orientaci vláken [6].

Některé vybrané typy uspořádání upraveného elektrostatického zvlákňování jsou uvedené na následujících obrázcích 2 - 4.

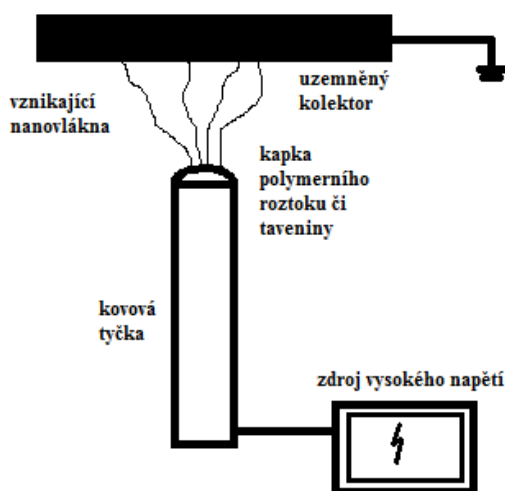
Obrázek 2 zobrazuje zvlákňování z injekční stříkačky. Do stříkačky se umístí roztok nebo tavenina polymeru, na jehlu se přivede zdroj vysokého napětí. Jehla se umístí do potřebné vzdálenosti od uzemněného kolektoru s podkladovou textílií. Při

pohybu dávkovacího čerpadla dochází k vytlačování roztoku nebo taveniny polymeru do jehly a jeho následnému zvlákňování v elektrickém poli. Vydloužená vlákna se ukládají na podkladovou textílii umístěnou na kolektoru.



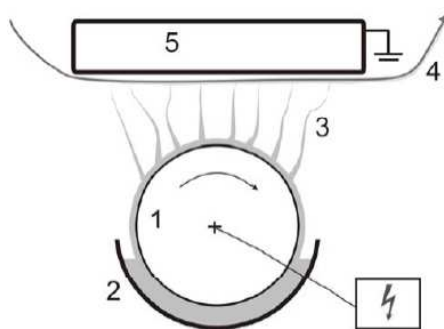
Obrázek 2 Zvlákňování z injekční stříkačky – zvlákňování za pomoci tlaku. Čerpadlem vytlačená vlákna jsou dlužena v elektrickém poli a ukládána na podkladovou textílii umístěnou na uzemněném kolektoru [1].

Obrázek 3 zobrazuje zvlákňování z tyčky. Roztok nebo tavenina polymeru se opatrně nanese na plochý konec tyčky v takovém množství, aby vytvořila kapku po celém povrchu. Tyčka je umístěna v dostatečné vzdálenosti od uzemněného kolektoru. Po přivedení vysokého napětí na spodní konec tyčky začne proces zvlákňování – z kapky polymeru se z povrchu roztoku nebo taveniny polymeru začnou vytvářet vlákna, která se v elektrickém poli dále dluží a dopadají na podkladový materiál umístěný na uzemněném kolektoru.



Obrázek 3 Zvlákňování z tyčky – z volného povrchu. Roztok/tavenina polymeru se nanese na plochý konec tyčky. Při zvlákňování dochází k dlužení vláken v elektrickém poli, vydloužená vlákna dopadají na podkladový materiál umístěný na uzemněném kolektoru [1].

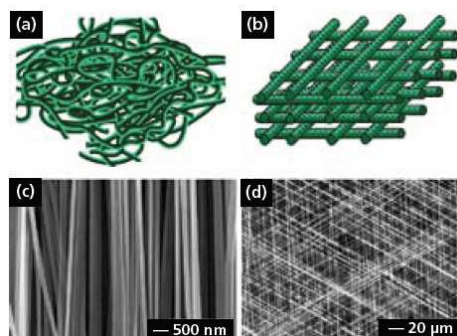
Obrázek 4 zobrazuje bezjehlové elektrostatické zvlákňování z volného povrchu kapaliny, přístroj Nanospider (světový patent zaevidovaný v roce 2003, za jeho dalším vývinem stojí tým profesora O. Jirsáka z TUL a společnost Elmarco s.r.o.). Jedná se o variantu plynulé výroby nanovláken bezjehlovou metodou použitelnou i pro průmyslovou výrobu. Do nádržky se nalije roztok nebo tavenina polymeru, váleček (umístěný v dostatečné vzdálenosti od uzemněného kolektoru) je kladně nabitý. Rotující váleček se smáčí v nádržce s roztokem nebo taveninou polymeru, čímž ho dopravuje do elektrického pole. Vlákna jsou dlužena z povrchu roztoku nebo taveniny polymeru v elektrickém poli při vysokém napětí (20-100 kV). Vzniklá nanovlákna jsou ukládána na podkladovou textílii umístěnou na uzemněném kolektoru. Výhodou této technologie je plynulá výroba, vysoká výrobní kapacita a jednoduchost výroby. [2, 7].



Obrázek 4 Upravené elektrostatické zvlákňování z válečku – základní princip: 1 – kovový váleček (kladně nabitý), 2 – nádržka s polymerním roztokem, 3 – směr zvlákňování, 4 – podkladová netkaná textílie pro ukládání nanovláken, 5 – uzeměný kolektor [8].

2.1.1 Druhy uspořádání elektrostaticky zvlákněných vláken

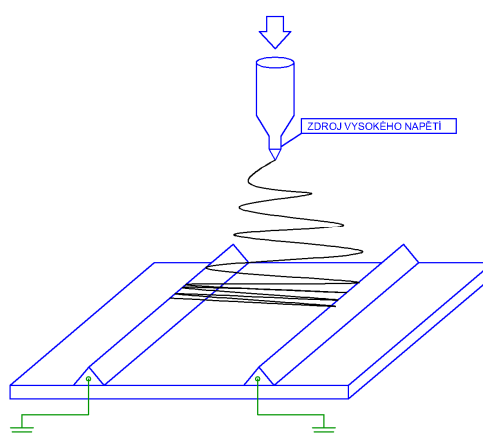
Vlákna se na kolektor ukládají dvojím způsobem – uspořádaně a náhodně. Při náhodném uspořádání (Obrázek 5a) dopadají vydloužená vlákna přímo z procesu bičování na podkladovou textílii umístěnou na uzemněném kolektoru. Na Obrázku 5b je schéma 3D struktury nanovláken a na Obrázku 5c je SEM zobrazení uspořádaných nanovláken elektrostaticky zvlákněných z roztoku polyakrylonitrilu a dimethylformamidu. Obrázek 5d je SEM zobrazení třívrstvého filmu z polivinylypyrolidonových vláken dlužených mezi třemi páry elektrod. Vlákna vznikla střídavým zapojováním elektrod ke zdroji vysokého napětí. Uspořádaná vlákna jsou vnějšími vlivy modifikována před dopadem na podkladovou textílii a to tak, aby jejich uložení odpovídalo požadavkům [6].



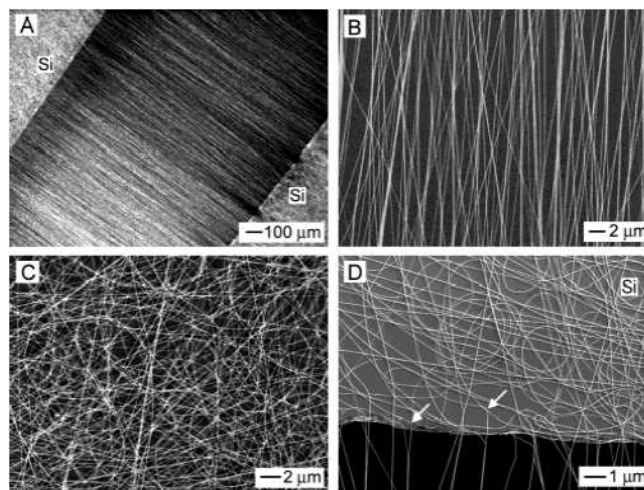
Obrázek 5 (a) Schéma nanovláken s náhodnou orientací. (b) Schéma 3D struktury nanovláken. (c) SEM zobrazení uspořádaných uhlíkových nanovláken. (d) SEM zobrazení vrstveného filmu PVP nanovláken [6].

2.1.2 Způsoby výroby orientovaných elektrostaticky zvlákněných vláken

Orientovaná elektrostaticky zvlákněná vlákna se dají získat několika různými způsoby. Vlákna mohou být například dlužena mezi dvěma elektrodami oddělenými mezerou (Obrázek 6, příklad vydložených nanovláken je na Obrázku 7). V tomto případě jsou vlákna dlužena ve vzniklé mezeře. Elektrody mohou být vzorované izolačním substrátem (křemen, polystyren), což při zvláknování vede k 3D vrstvení uspořádaných vláken. Hustotu kladení vláken lze ovlivnit změnou vzorku na elektrodě nebo změnou aplikace vysokého napětí. Dloužení je nejvíce ovlivňováno uspořádáním elektrod. (Obrázek 5d) [6].

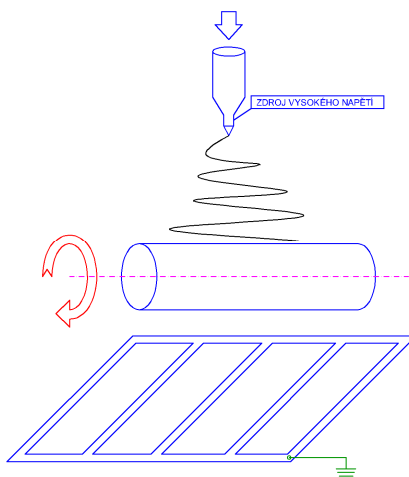


Obrázek 6 Příklad dloužení vláken mezi dvěma elektrodami – vlákna jsou vydložena v prostoru mezi elektrodami, jejich postavení ovlivňuje způsob uspořádání vláken [9].

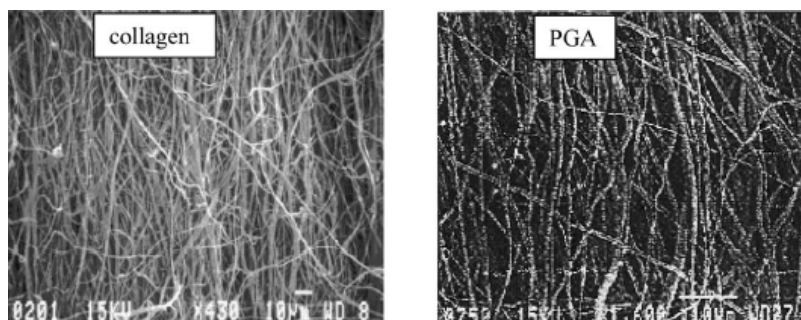


Obrázek 7 Orientace PVP nanovláken na kolektoru tvořeného dvěma křemíkovými elektrodami. (A) Zobrazení uložení PVP vláken v mezeře mezi oběma elektrodami pomocí mikroskopie temného pole. (B, C) SEM zobrazení stejného vzorku, které zobrazuje vlákna uložena (B) přes mezeru a (C) na povrchu křemíkové elektrody. (D) SEM zobrazení dalšího vzorku na rozmezí křemíkové elektrody a mezery [9].

Další možností výroby uspořádaných nanovláken je navíjení dlouhých vláken na rotující válec (v tomto případě je nutné dbát na správnou rychlost navíjení – velká rychlost může vlákna přetrhnout, pomalá rychlost může způsobit neuspořádané ukládání – překrývání dlouhých vláken) mezi dvěma elektrodami nebo vedle elektricky nabitě a uzemněné mříže (Obrázek 8, příklad vydložených nanovláken je na Obrázku 9).

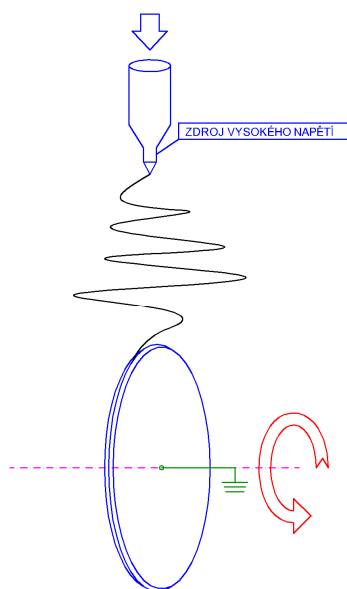


Obrázek 8 Příklad dloužení vláken na rotující válec – vlákna jsou odtahována rotujícím válcem. Pod válcem je umístěná uzemněná mříž. Rychlost otáčení nesmí být ani příliš pomalá (vlákna by se překrývala), ani příliš rychlá (vlákna by se přetrhla) [10].



Obrázek 9 Uspořádaná kolagenová a PGA elektrostatičtce zvlákněná nanovláknna pomocí ukládání dloužených vláken na kolektor ve formě rotujícího válečku. Rychlost otáčení byla v případě PGA 1000 rpm (rounds per minute), v případě kolagenu se jednalo o 4500 rpm [10].

Jako kolektor může sloužit i rotující disk se sešikmenou hranou – vydložená vlákna se urovnávají vedle sebe na hranu kola (Obrázek 10, vydložená nanovláknna jsou na Obrázku 11). Nevýhodou této varianty je malá kapacita ukládání dloužených vláken.

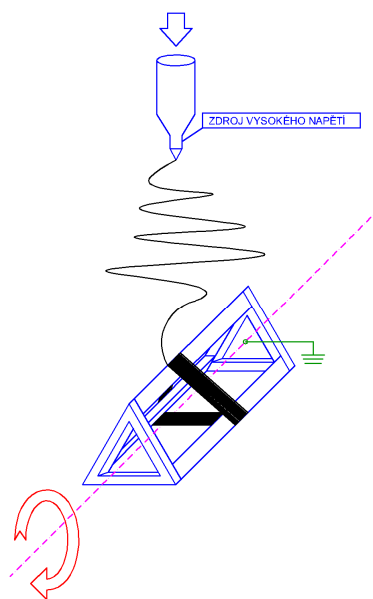


Obrázek 10 Příklad dloužení vláken na rotující disk se sešikmenou hranou – vlákna jsou vedle sebe ukládána na hranu disku. Nevýhodou této varianty je malá kapacita ukládání dloužených vláken [10].



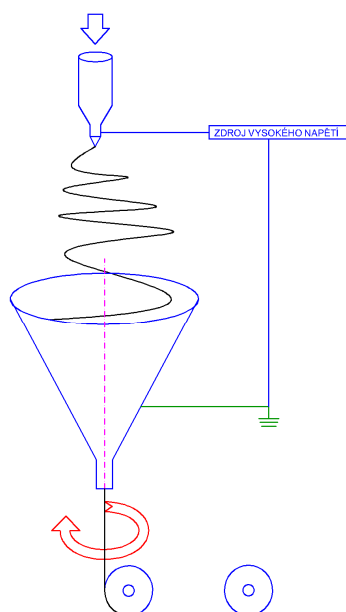
Obrázek 11 Zobrazení PEO vláken získaných metodou ukládání dloužených vláken na kolektor ve formě rotujícího disku se sešikmenou hranou [10].

Další variantou kolektoru může být prostorová mříž ve tvaru seříznutého jehlanu s trojúhelníkovými podstavami (Obrázek 12). Tato mříž při navíjení vláken také rotuje, přičemž jsou jednotlivé stěny nevyplněné – tím se vlákna uspořádaně ukládají kolmo k hranám jehlanu [10].



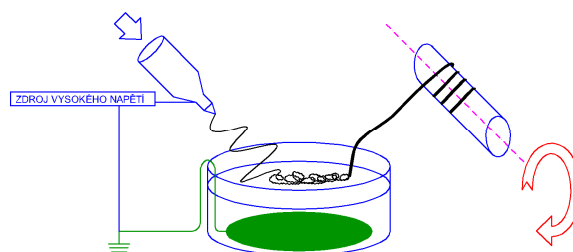
Obrázek 12 Příklad dloužení vláken na rotující mříž – uspořádaně orientovaná vlákna jsou odtahována rotující mříží. Rychlost otáčení nesmí být ani příliš pomalá (vlákna by se překrývala), ani příliš rychlá (vlákna by se přetrhla) [10].

Vlákna mohou být ukládána i do kolektoru ve tvaru rotujícího trychtýře, ze kterého jsou navíjena na vál (Obrázek 13).

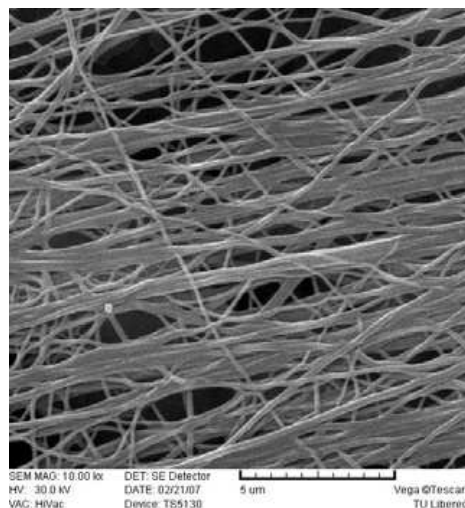


Obrázek 13 Příklad dloužení vláken do kolektoru ve tvaru rotujícího trychtýře – vlákna jsou po průchodu trychtýřem navíjena na vál [11].

K uspořádání vláken může sloužit i bičování vláken na volný povrch jiné tekutiny – například na vodu (pokud jsou vlákna ve vodě nerozpustná) nebo na povrch jiné kapaliny (pro vodou rozpustná vlákna) – a následné odvíjení na vál (Obrázek 14, vydložená nanovlákna jsou na Obrázku 15).

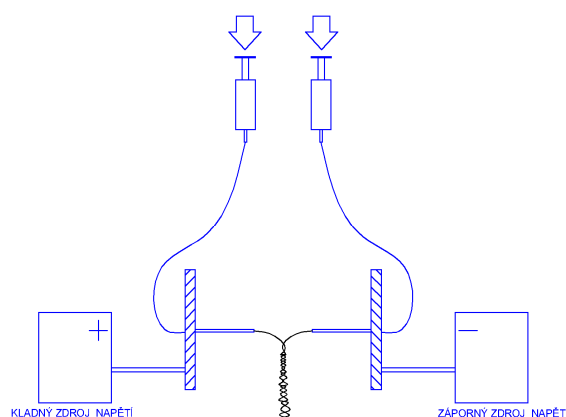


Obrázek 14 Příklad bičování vláken na povrch jiné tekutiny – vlákna jsou po dopadu na volný povrch tekutiny odvíjena na vál [11].

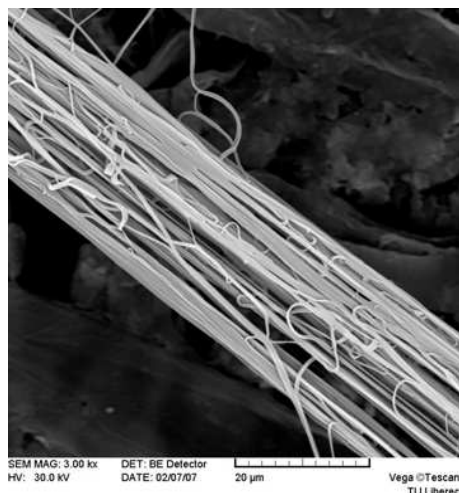


Obrázek 15 Zobrazení vláken bičovaných na hladinu jiné tekutiny [11].

Jinou variantou může být vytlačování vláken ze dvou trysek najednou umístěných proti sobě (Obrázek 16, vydloužená nanovlákná jsou na Obrázku 17). Jedna tryska je spojená s kladným zdrojem napětí, druhá se záporným zdrojem napětí. Trysky jsou spojené s vytlačovacími pumpami. Z nich je najednou vytlačovaný zvlákňovaný polymerní roztok, který projde nabitými tryskami. Uprostřed mezery mezi tryskami se proudy zvlákňovaného polymeru setkají a společně se vydlouží do proudu upořádaných vláken, která jsou odváděna kolmo k tryskám [12].

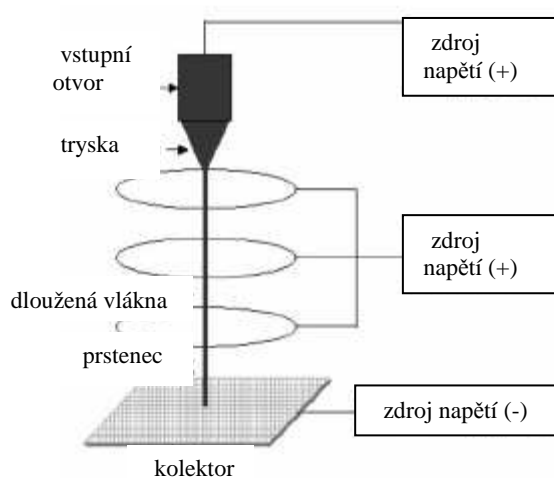


Obrázek 16 Příklad vytlačování vláken ze dvou trysek najednou – jedna tryska je spojena s kladným zdrojem napětí, druhá se záporným zdrojem napětí. Vlákná jsou z trysek vytlačována pomocí pump umístěných na koncích trysek. Vlákná se po vytlačení z nabitých trysek setkají v mezeře mezi tryskami, společně se vydlouží do proudu uspořádaných vláken, která jsou následně odvíjena kolmo k tryskám [11].

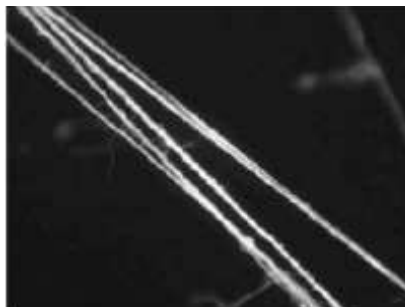


Obrázek 17 Zobrazení vláken vytlačovaných ze dvou trysek najednou [11].

Existují i další možnosti uspořádání sestav pro výrobu orientovaných vláken. Může se jednat o použití techniky několikanásobného elektrického pole, kdy se dloužená vlákna z polymerního roztoku (pohybující se chaoticky směrem ke kolektoru) orientují při průchodu několika po sobě následujících elektrických polí (Obrázek 18, vydloužená nanovlákna jsou na Obrázku 19).

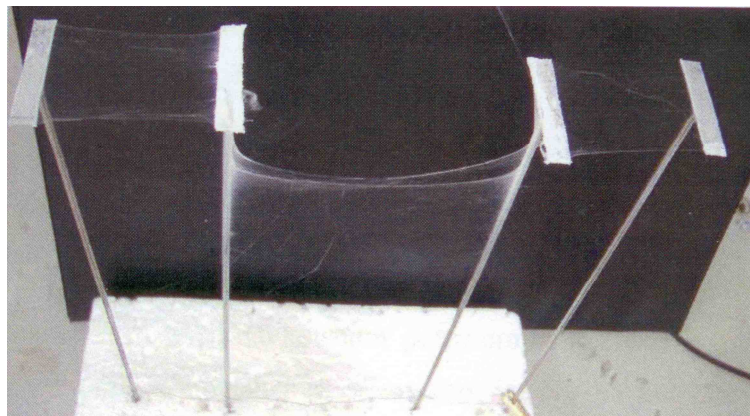


Obrázek 18 Dloužení vláken v několikanásobném elektrickém poli – proud polymerního roztoku prochází před dopadem na kolektor sérií několika elektrických polí [10].



Obrázek 19 Dloužení vláken v několikanásobném elektrickém poli - PEO vláknenná příze získaná touto metodou [10].

Další možností výroby uspořádaně orientovaných nanovláken je použití kolektoru ve formě dvou elektrod ve tvaru T viz Obrázek 20 [13].



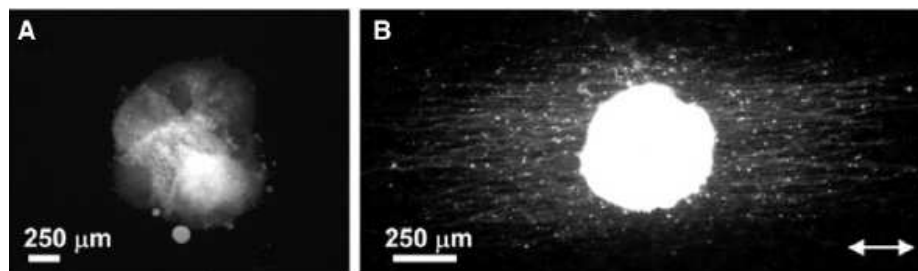
Obrázek 20 Použití kolektoru ve formě dvou elektrod ve tvaru T při zvlákňování uspořádaně orientovaných nanovláken z PVA [13].

Mezi další metody výroby orientovaných vláken patří dloužení vláken s ukládáním na kolektor ve tvaru obdélníkové mříže, která je umístěna na uzemněnou podložku. Materiál, ze kterého je mříž vyrobena, ovlivňuje způsob uložení vláken (nejlepší výsledky byly získány při použití hliníkové mříže) [10].

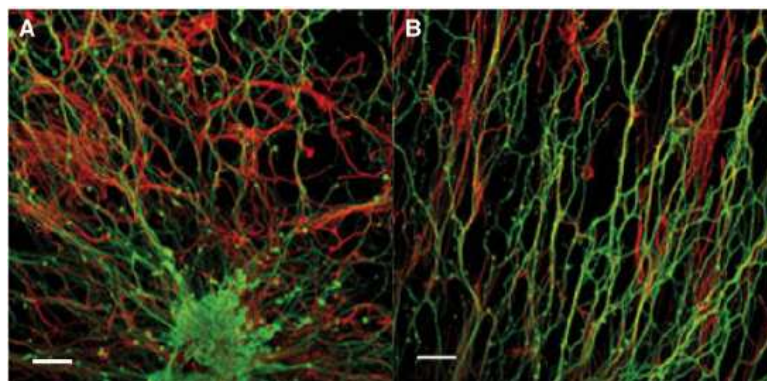
V neposlední řadě se může jednat i o zvlákňování na vodorovně uložený rotující válec, ze kterého jsou vlákna odtahována párem menších válečků. Ty vlákna ztenčí a navedou na další, kolmo orientovaný, rotující válec, který vlákna zakrouť. Vlákna jsou nakonec navíjena na vál [11].

Podle posledních poznatků je správná orientace vláken ve scaffoldech důležitější než jejich vodivost. Orientace ve scaffoldech určuje směr růstu buněk, což může být pro většinu aplikací kritické (například v případě pěstování neuronů je obzvláště důležité

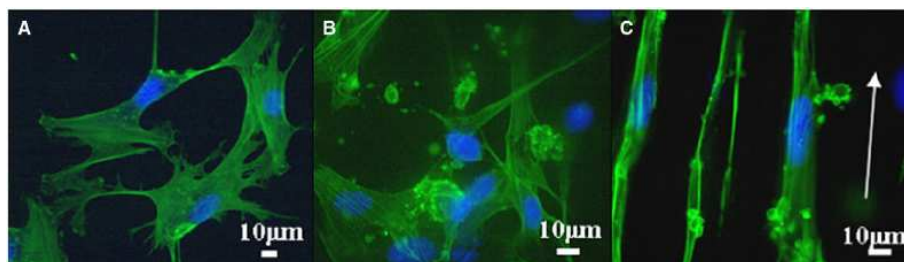
správné prorůstání axonů ve směru vláken) [14]. Příklady růstu buněk na náhodně orientovaných a uspořádaných nanovlákních jsou na Obrázcích 21 – 23.



Obrázek 21 Výsledek 6 denní kultivace in vitro nervové tkáně na PLLA nanovlákních – (A) náhodně orientovaných, (B) uspořádaných. Zvýrazněná neuronová vlákna jasně indikují výrazný růst na uspořádaných nanovlákních [15].



Obrázek 22 Efekt uspořádání elektrostaticky zvlákněných vláken na orientaci neuritů. Červeně zbarvené astrocyty a zeleně obarvené neurity na (A) náhodně orientovaných PDS (polydioxanonových) nanovlákních a na (B) uspořádaných elektrostaticky zvlákněných PDS vláknech po 20 dnech kultivace in vitro. Měřítka: 100 μm [15].

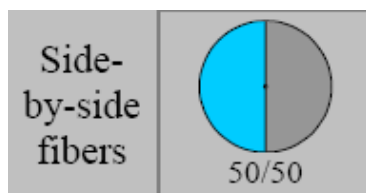


Obrázek 23 Efekt kontaktního navádění uspořádaných elektrostaticky zvlákněných vláken na lidské Schwannovy buňky (Schwanovy buňky jsou součástí neuronů). Lidské Schwannovy buňky byly kultivovány 3 dny na (A) PCL filmu, (B) PCL náhodně orientovaných vlákních a na (C) PCL uspořádaných vlákních [15].

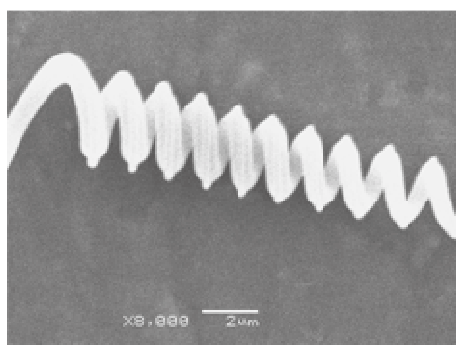
2.1.3 Kompozitní elektrostaticky zvlákněná nanovlákná

Termín kompozitní nanovlákná naznačuje, že se jedná o vlákna s dvěma a více složkami. Nejčastěji jsou používána bikomponentní nanovlákná. Bikomponentní vlákna všeobecně dělíme na vlákna side-by-side (vedle sebe), sheat/core (plášť/jádro), mikrovlákná, smíšená vlákna aj. Side-by-side vlákna jsou obvykle používána jako

pojivá vlákna. Vláknó je vytvořené dvěma polymery s různým stupněm deformace a tendencí ke srážení (Obrázek 24, příklad nanovlákná je na Obrázku 25).

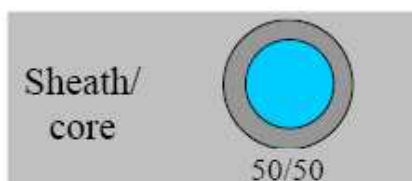


Obrázek 24 Nejběžnější typ druhu bikomponentních vláken typu side-by-side – 50/50. Vláknó je tvořeno dvěma polymery s různým stupněm deformace a tendencí ke srážení [16].

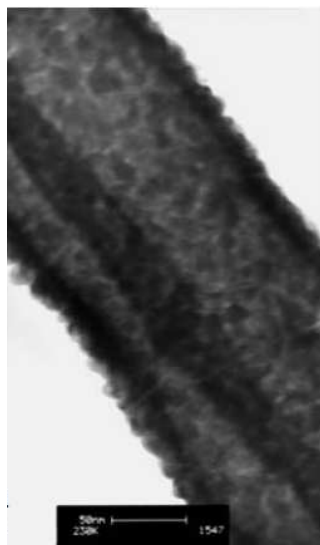


Obrázek 25 SEM zobrazení elektrostaticky zvlákněných nanovláken HSPET/PTT 50/50. Zvlákněná vlákna mají spirálovitou strukturu. Běžný průměr nanovlákná HSPET/PTT je 800 nm, průměr šroubovice je kolem 1–1.5 μm [17].

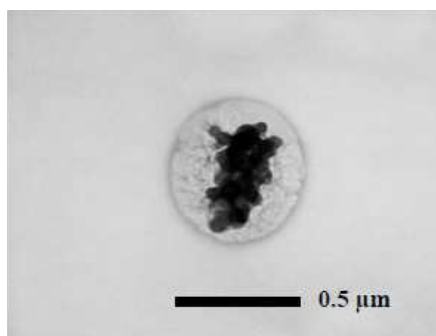
Vlákna typu plášť/jádro se dělí na několik podskupin, přičemž nejznámější jsou pojivá vlákna, která jsou složená z pláště s nižší teplotou tání a jádra s vyšší teplotou tání (Obrázek 26, příklad nanovlákná je na Obrázku 27 a 28). Běžně používané polymery pro výrobu vláken plášť/jádro z této skupiny jsou PE/PP, PE/PET, co-PET/PET a PP/PET. Tato vlákna se mimo jiné používají jako termopojivá. Nanovlákná plášť/jádro mohou být používána i k transportu léčiv krevním oběhem. Do jádra se během výroby zavede předem určený lék, hotové nanovláknó se implantuje do těla vstříknutím v roztoku do krevního řečiště. Poté doputuje na požadované místo v těle pacienta, kde se plášť vlákná rozpustí a lék se tak z jádra uvolní [18].



Obrázek 26 Nejběžnější typ bikomponentních vláken plášť/jádro – 50/50. Plášť má nižší teplotu tání, jádro má vyšší teplotu tání [16].

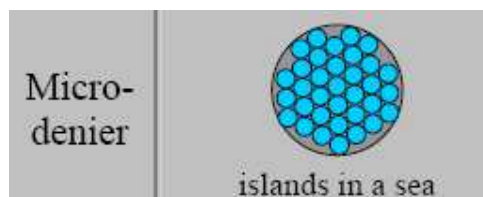


Obrázek 27 TEM zobrazení nanovláknna plášť/jádro PEO/PASA (poly(ethylenoxid)/poly(anilin sírová kyselina)) při měřítku 50 nm [18].



Obrázek 28 TEM zobrazení PVA/PEO bikomponentního vlákna typu plášť/jádro – příčný řez. PEO je rozpuštěný v chloroformu s barvivem [5].

Mikrovlákna mohou být vytvořena rozdělením vláken nebo rozpuštěním či roztavením jedné z komponent. Tyto techniky se používají i k výrobě nanovláken (typ ostrůvky v moři viz Obrázek 29). U typu ostrůvky v moři se matrice při zpracování rozpustí nebo roztaví, vlákna se utvoří z ostrůvkových komponentů.

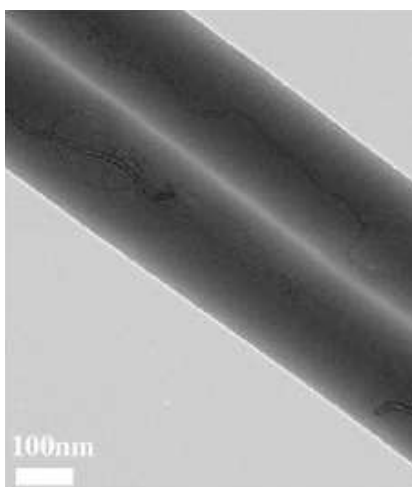


Obrázek 29 Typ bikomponentních mikrovláken – ostrovy v moři. Matrice se při zpracování vlákna rozpustí nebo roztaví, vlákna se vytvoří z ostrůvkových komponentů [16].

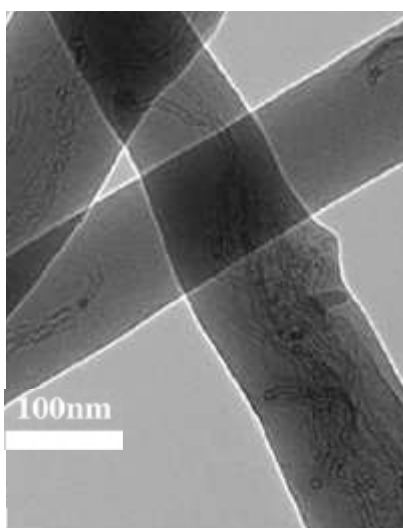
Existují i další typy bikomponentních vláken (smíšená vlákna, tipped vlákna¹), která se ale nepoužívají jako nanovlákna [16].

Metodou pro výrobu bikomponentních vláken může být koaxiální elektrostatické zvlákňování (typ plášť/jádro) nebo spojení dvou proudů taveniny ve zvlákňovací trysce (typ side-by-side) nebo těsně za ní (vzájemné lepení). Obloučkování je způsobeno různou srážlivostí komponent [19].

K výrobě kompozitních nanovláken se používá polymerního roztoku s příměsí aditiv například ve formě uhlíkových nanotrubic viz Obrázky 30 – 32 [7].

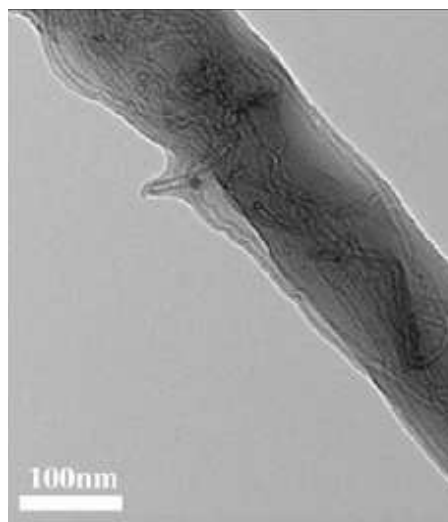


Obrázek 30 TEM zobrazení kompozitního vlákna MWNTs (mnohostěnné uhlíkové nanotrubic)/polyamid 6, 6 s obsahem 2 hm.% MWNTs. Jednalo se o elektrostatické zvlákňování z injekční stříkačky při 18kV. Vzdálenost jehly a kolektoru byla 10 cm. Rychlost toku roztoku byla 0,4 ml/h [20].



Obrázek 31 TEM zobrazení kompozitního vlákna MWNTs (mnohostěnné uhlíkové nanotrubic)/polyamid 6, 6 s obsahem 10 hm.% MWNTs. Jednalo se o elektrostatické zvlákňování z injekční stříkačky při 18kV. Vzdálenost jehly a kolektoru byla 10 cm. Rychlost toku roztoku byla 0,4 ml/h [20].

¹ Tipped vlákna jsou vlákna hvězdčovitěho průřezu s jiným polymerem na koncích.

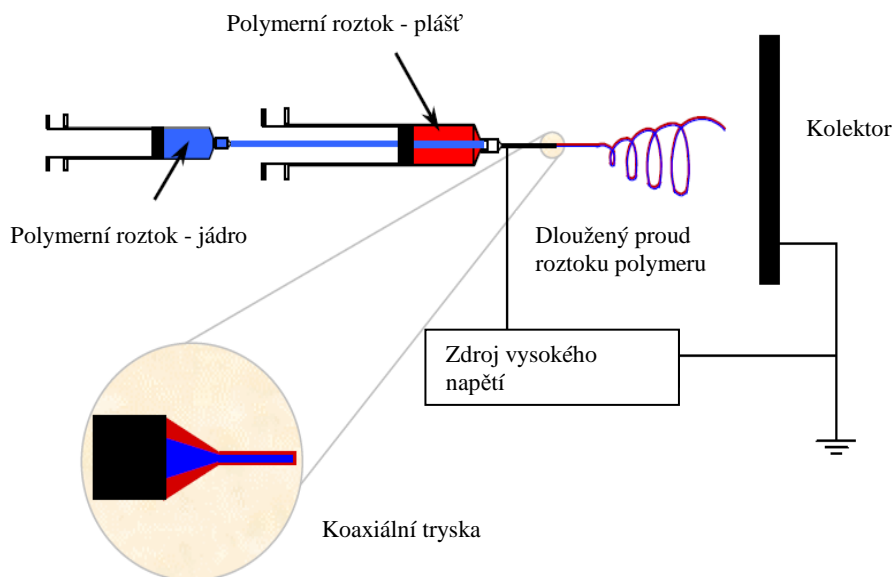


Obrázek 32 TEM zobrazení kompozitního vlákna MWNTs (mnohostěnné uhlíkové nanotrubic)/polyamid 6, 6 s obsahem 20 hm.% MWNTs. Jednalo se o elektrostatické zvlákňování z injekční stříkačky při 18kV. Vzdálenost jehly a kolektoru byla 10 cm. Rychlost toku roztoku byla 0,4 ml/h [20].

Pro zkoumání povrchu nanovláken se používá SEM (skenovací elektronová mikroskopie), pro zjišťování obsahu, orientace a umístění nanovláken se používá TEM (transmisní elektronová mikroskopie) nebo Ramanova mikroskopie [7].

2.1.4 Koaxiální elektrostatické zvlákňování

Jedná se o modifikaci klasického elektrostatického zvlákňování, která umožňuje výrobu vláken typu plášť/jádro. Jeden z možných způsobů uspořádání je na Obrázku 33.

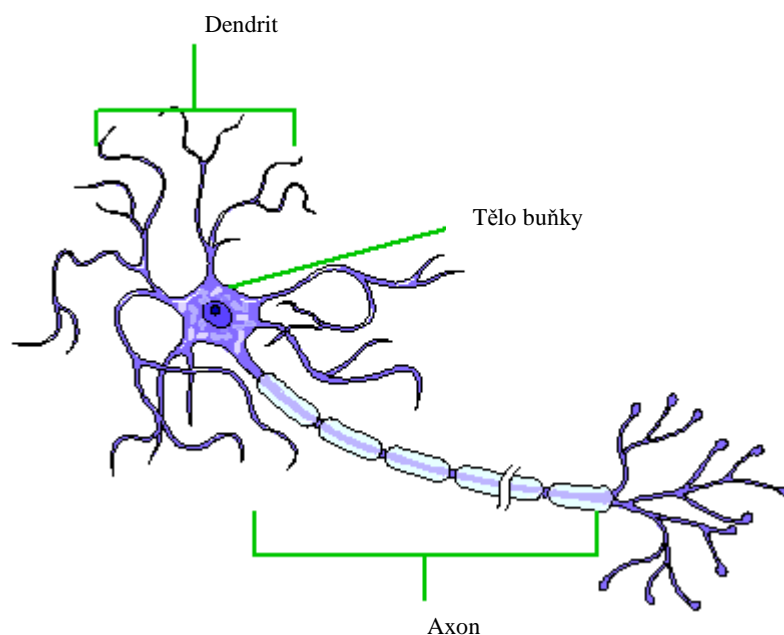


Obrázek 33 Jeden ze systémů uspořádání koaxiálního elektrostatického zvlákňování. Systém se skládá ze dvou injekčních stříkaček a ze dvou čerpadel. Delší jehla je spojena s čerpadlem umístěným vzadu, které obsahuje polymerní roztok tvořící ve vlákne jádro, a kratší jehla s čerpadlem umístěným vpředu, které obsahuje polymerní roztok tvořící ve vlákne plášť. Čerpadla jsou na sobě nezávisle ovládána, rychlost jejich stlačování ovlivňuje rychlost toku jednotlivých polymerních roztoků. Vytlačované polymerní roztoky z jehel připojených na zdroj vysokého napětí jsou dloužené v elektrickém poli. Vydložené vlákna se ukládají na podkladový materiál umístěný na uzemněném kolektoru [5].

Na tomto obrázku se koaxiální elektrostatické zvlákňování skládá ze dvou injekčních stříkaček a ze dvou čerpadel, která určují množství polymerních roztoků vytlačovaných stříkačkami. Dlouhá jehla spojená s čerpadlem umístěným vzadu a krátká jehla spojená s čerpadlem umístěným vpředu vytvářejí koaxiální konfiguraci umístěnou na konci zařízení. Přední čerpadlo obsahuje polymerní roztok, který ve vlákne tvoří plášť, a zadní čerpadlo polymerní roztok, který tvoří jádro vlákna. Čerpadla jsou ovládána nezávisle na sobě – rychlost jejich stlačování ovlivňuje rychlost toku jednotlivých polymerních roztoků. Ostatní prvky systému pro koaxiální elektrostatické zvlákňování jsou stejné jako pro ostatní systémy elektrostatického zvlákňování: uzeměný kolektor a zdroj vysokého napětí spojený s jehlou a s kolektorem. Postupným zvyšováním napětí přechází kapka vytlačená z konce jehly do tvaru Taylorova kuželu [18]. Při dosažení určité prahové hodnoty se proud obsahující oba polymerní roztoky vydloží do nanovlákna. Rozpuštědlo se během zvlákňování vypaří a suchá vlákna dopadnou na podkladovou textílii umístěnou před kolektorem. Podkladová textílie je odváděna z prostoru pro zvlákňování a navíjena například na zbožíový vál (dle dalšího použití nanovláken) [5].

2.2 Neurony a nervy

Jelikož je cílem této práce vyrobit vlákenný, respektive nanovláknenný (elektrostaticky zvlákněný), elektricky vodivý scaffold, který by byl vhodný pro rekonstrukci nervové tkáně, je potřeba vysvětlit specifika nervové tkáně, která je tvořená nervovými buňkami, neurony. Neuron je nervová buňka, jedná se o základní stavební a funkční jednotku nervového systému. Jeho elektricky vysoce polarizovaná (nabitá) buněčná membrána je schopna prudce změnit polaritu a vytvořit tak nervový vzruch (impuls). Významnou vlastností neuronu je schopnost přijímat, tvořit, vést a předávat vzruchy. Této funkci je přizpůsoben i jeho tvar: tělo s rozsáhlým systémem výběžků (dlouhé – axon, který je odstředivý a bývá obalen myelinovou pochvou s výjimkou CNS, ve které se nacházejí i axony bez pochvy, v těle neuronu je vždy pouze jeden a krátké – dendrity, které jsou dostředivé), které mohou v některých případech dosahovat až desítek centimetrů. Schéma neuronu je na Obrázku 34. Komunikace neuronů navzájem a s cílovými orgány (například svaem) je uskutečňována na synapsi pomocí neurotransmiterů. Synapse je štěrbinovité spojení dvou neuronů nebo smyslové buňky a neuronu [21]. Neurotransmitter je chemická látka uvolňovaná z nervového zakončení na synapsi. Slouží k přenosu impulsu přes synaptickou štěrbinu a umožňuje tak další šíření podráždění (v nervovém systému) nebo vyvolání určité reakce (stah svalu, vyprázdnění žlázy) [22].

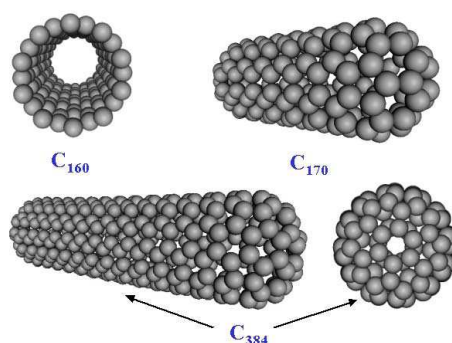


Obrázek 34 Neuron – stavba těla neuronu, základní rozdělení. Dendrity a tělo buňky dostávají impulsy od ostatních neuronů. Tělo buňky obsahuje jádro a řídí celou reakci přenosu. Axon je nositelem impulsu k ostatním neuronům [23].

V nervovém systému je kolem 20 miliard neuronů, které nejsou schopny dělení. Nervová tkáň neregeneruje. Jde o vysoce specializované a diferencované buňky, kterých v nervovém systému existuje velké množství druhů s různou morfologií a funkcí [24]. Neurony jsou v šedé hmotě míchy, v mozkové kůře, mozkových jádrech, jsou základem i některých buněk ve smyslových orgánech. Jsou navzájem propojeny pomocí mnoha synapsí a vytvářejí tak komplikované neuronové sítě. Elektrické činnosti nervových buněk využívají některé diagnostické metody, jako jsou elektroencefalografie (EEG) a elektromyografie (EMG) [25]. EEG je neurofyzilogické vyšetření zaznamenávající elektrickou aktivitu (bioelektrické potenciály) různých částí mozku. Činnost mozku (myšlení, rozhodování, paměťové procesy a další) je zprostředkována přenosem nervových vzruchů mezi jednotlivými buňkami. To je provázeno změnami elektrického napětí, které je možno registrovat pomocí elektrod umístěných na povrchu lebky. Signály z elektrod jsou přenášeny do elektroencefalografu, který je zpracovává a následně kreslí na papír nebo na obrazovku EEG křivku. Vyšetření se používá k diagnostice mozkového postižení (epilepsie, spánkových poruch, poruch vědomí, nádorů, poranění mozku a podobně) [26]. EMG je vyšetřovací metoda, která je založena na snímání povrchové nebo intramuskulární svalové aktivity. Zaznamenává změnu elektrického potenciálu, ke které dochází při svalové aktivaci [27]. Dělí se na dvě vyšetřovací metody – povrchovou a jehlovou. Měří se rychlost vzruchu ve stimulovaném nervu a velikost elektrické odpovědi na stimulaci svalu nebo v jiném místě nervu. Výsledkem vyšetření je EMG křivka. Vyšetřením se dá zjistit poruchu nervosvalového přenosu nebo poruchu vedení nervem. Naměřené hodnoty mohou ukázat na poškození vyšetřovaného nervu úrazem, tlakem, zánětem, metabolickou poruchou nebo toxickými látkami [28].

2.3 Uhlíkové nanotrubičky (Carbon NanoTubes = CNTs)

Pro výrobu vlákenného elektricky vodivého scaffoldu je nutno použít materiál, který zajistí elektrickou vodivost. Takovým materiálem mohou být uhlíkové nanotrubičky, které jsou elektricky vodivé a které se dají zakombinovat do biodegradabilních a biokompatibilních materiálů. Uhlíkové nanotrubičky zlepšují mimo jiné i tepelnou vodivost a pevnost materiálů.

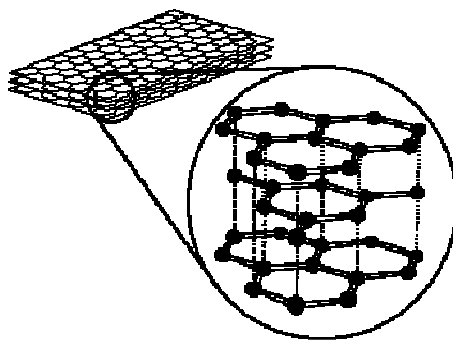


Obrázek 35 Uhlíkové nanotrubičky. Číslo uvedené za značkou uhlíku udává počet atomů uhlíku v nanotrubičce [29].

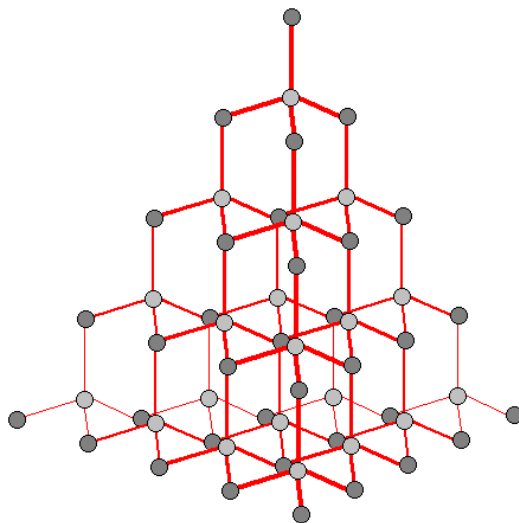
Jedná se o struktury tvořené z jakoby stočených grafitových rovin nebo protáhlé fulereny (sférické molekuly z 5-6 členných atomů uhlíku, minimální počet atomů uhlíku je 20, při kterém je fuleren nejméně stabilní, a pak pro téměř každý sudý počet atomů, vyjma 22, existuje další fuleren. Nejsymetričtější a nejkulatější fulerem je C_{60} . Vedle grafitu a diamantu představují fulereny třetí známou formu hlíku [30].), uspořádané do uzavřeného tvaru, mimořádně odolné vůči vnějším fyzikálním vlivům (Obrázek 35). Všechny se vyznačují tzv. cylindrickou geometrií, mohou být dokonce i vícevrstvé. Vznikají za přibližně podobných podmínek jako běžné fullerény.

Fullerény se mohou v omezeném množství vyskytovat v přírodě (v sazích, v uhelných a jiných geologických vrstvách). Pravidelně je jejich přítomnost spektrálně potvrzována a vyvracena v poměrně značném množství v mezihvězdném prostoru v blízkosti obřích červených hvězd. Z přírodních zdrojů se však významněji získávat nedají. První syntetické postupy využívaly laserové odpařování grafitu do proudu helia s následným ochlazením prudkou expanzí. Ve vzniklých klastrech se vyskytoval určitý podíl fullerenu C_{60} a C_{70} . Dnes se využívá metoda řízeného spalování organických látek v obloukovém výboji, případně jejich příprava v silném výboji mezi uhlíkovými elektrodami v atmosféře helia [31]. Uhlíkové nanotrubičky byly poprvé popsány v roce 1991 v Japonsku Sumio Iijimou, který s pomocí transmisního elektronového mikroskopu studoval saze vznikající při obloukových výbojích. První pozorované nanotrubičky byly mnohostěnné, jednostěnné uhlíkové nanotrubičky byly pozorovány s odstupem dvou let [32]. Nanotrubičky rostou podélně od čepičky. Vzhledem ke svému průměru a délce mají velký specifický povrch. Vyznačují se výjimečnou pevností, elektrickou vodivostí a tepelnou odolností. Název byl odvozen od jejich průměru, jedná se v podstatě o podlouhlé útvary, jejichž stěny jsou tvořeny atomy uhlíku o průměru 1 až 100 nanometrů a o délce do 100 mikrometrů. Nanotrubičky se dělí na jednostěnné

(SingleWalled NanoTubes = SWNTs) a mnohostěnné (MultiWalled NanoTubes = MWNTs). Chemické vazby nanotubic jsou složené z sp^2 vazeb (podobné grafitu viz Obrázek 36), které jsou pevnější než vazby sp^3 v diamantech (Obrázek 37). Nanotrubice jsou pevné právě díky kovalentním vazbám mezi uhlíky (každý uhlík je spojen kovalentní vazbou s dalšími třemi uhlíky) [32].



Obrázek 36 Struktura grafitu – mezi uhlíky jsou kovalentní vazby, mezi jednotlivými vrstvami jsou vazby Van Der Wallsovy, které nejsou tak pevné jako vazby kovalentní [33].



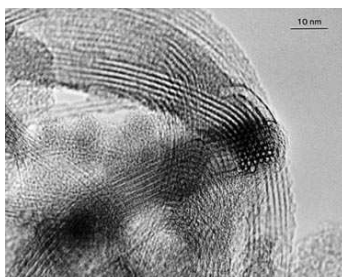
Obrázek 37 Struktura diamantu zobrazující vazby mezi uhlíky – zvýrazněné vazby jsou vazby vystupující do popředí [34].

Nanotrubice jsou velmi užitečné při konstrukci superpevných kompozitů, brusných materiálů nebo pro výrobu speciálních diamantů. Mnoho elektronických aplikací uhlíkových nanotubic závisí na technikách výroby CNTs buď s polovodičovou nebo s kovovou vodivostí (CNTs s židličkovou strukturou mají kovovou vodivost, jelikož je v této struktuře nejpřímější cesta pro elektrony). Je známo několik metod

separování polovodičových a kovových CNTs, ale většina z nich není pro svou ekonomickou náročnost vhodná pro reálné technologické procesy.

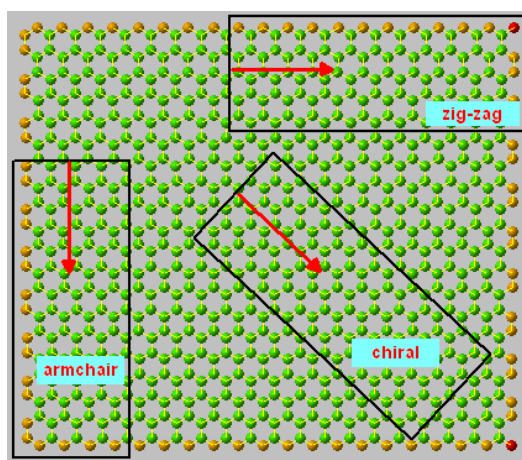
Typy uhlíkových nanotrubic a jejich struktury:

Jednotěnné

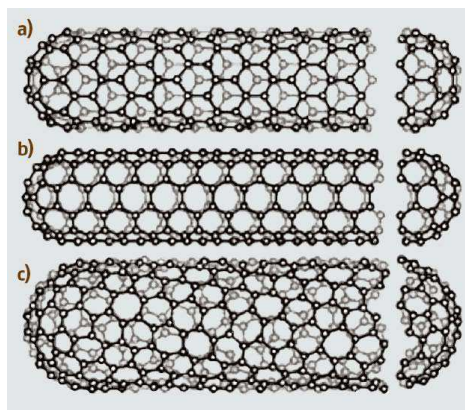


Obrázek 38 TEM zobrazení svazku jednotěnných uhlíkových nanotrubic, měřítko 10 nm [35].

Většina jednotěnných nanotrubic (SWNT, Obrázek 38) má průměr kolem 1 nanometru. Strukturu SWNT můžeme popsat jako do souvislého válce zabalenou jeden atom silnou vrstvu grafitu, která se nazývá grafen. Způsob, jakým je grafenová vrstva zabalená, naznačují indexy (n,m) , tzv. chirální vektory (Obrázek 39). Indexy n a m označují počet jednotek vektorů podél obou směrů ve struktuře krystalu grafenu ve tvaru medového plástu. Pokud se $m = 0$, uspořádání nanotrubic se nazývá "zigzag". Pokud se $n = m$, uspořádání nanotrubic se nazývá "židličkové". V ostatních případech je uspořádání "chirální" (Obrázek 40). Druh orientace má vliv na výsledné elektrické a mechanické vlastnosti nanotrubic.



Obrázek 39 Uspořádání uhlíkových nanotrubic v závislosti na velikosti vektorů m , n . Židličková struktura (pro $m=0$), chirální struktura (pro $m>n$) a zig-zag struktura pro $m=n$ [36].



Obrázek 40 Uspořádání nanotubic: a) zigzag struktura, b) židličková struktura, c) chirální struktura [37].

Jelikož je testování struktury vyrobených uhlíkových nanotubic velmi náročné (struktura se vyhodnocuje pomocí mikroskopie atomárních sil, AFM = Atom Force Microscopy), většina výrobců typ struktury vyrobených uhlíkových nanotubic neuvádí.

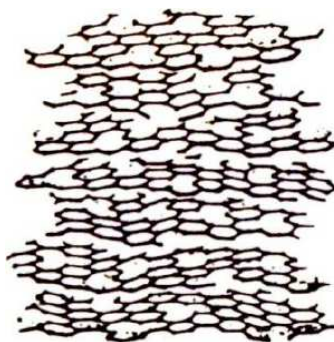
V současné době jsou připravovány materiály, které mají ve své stavbě i jiné atomy například bór a dusík [38]. Jednostěnné uhlíkové nanotubice mají některé elektrické vlastnosti, které mnohostěnné uhlíkové nanotubice nemají. Jsou výbornými vodiči, a proto se hodí k sestrojování drobné elektrotechniky. Jednostěnné nanotubice jsou ale stále poměrně drahé (1 g SWNTs s čistotou uhlíku větší než 77%, průměrem 0,7-1,1 nm a délkou 300-2300 nm stojí 19 000 CZK, 1 g MWNTs s čistotou uhlíku větší než 95%, průměrem 6-9 nm a délkou 5 μm stojí 152 CZK). Pokud se nepodaří nalézt levnější variantu jejich výroby, nebude mít (až na výjimky – například v lékařství) jejich širší průmyslová aplikace smysl.

Mnohostěnné



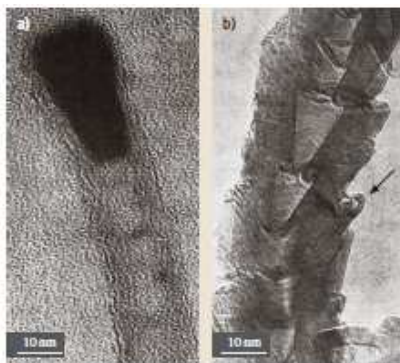
Obrázek 41 TEM zobrazení (podélný pohled) soustředné mnohostěnné nanotrubic (c-MWNT) připravené obloukovým výbojem. Ve výřezu je uspořádání soustředných grafenových vrstev (tzv. Russian doll) [39].

Mnohostěnné nanotrubic (MWNT) jsou složeny z několika jakoby smotaných vrstev (soustředných trubic) grafitu. Pro popis struktury mnohostěnných nanotubic se používá modelu, ve kterém je grafit uspořádán do soustředných válců, například (0,8) SWNT ve větší (0,10) SWNT. Vzdálenost vnitřní vrstvy v MWNT je podobná vzdálenosti mezi grafenovými vrstvami v uhlíku, přibližně 3.3 \AA (Angstrém, $1 \text{ \AA} = 0,1 \text{ nm}$). Mnohostěnné nanotrubic mohou tvořit různé struktury. Vzhledem k běžné strukturní různorodosti polyaromatických pevných látek můžeme u MWNTs očekávat podobnou variabilitu. Nejjednodušší struktura MWNT, kterou si můžeme představit, je soustředný MWNT typ (concentric MWNT = c-MWNT), ve kterém jsou SWNTs s rostoucím průměrem na sebe koaxiálně narovnané, čímž tvoří mnohostěnnou nanotrubic (Obrázek 41). Takové nanotrubic jsou běžně vyráběny buď technikou obloukového výboje (bez katalyzátoru) nebo tepelným štěpením plyných uhlovodíků za přítomnosti katalyzátoru, popřípadě CO disproportionací (viz text dále). Počet stěn nebo počet koaxiálních trubic může být pro MWNTs jakýkoliv (od dvou výše). Vzdálenost trubic přibližně odpovídá vzdálenosti grafenových vrstev v turbostratických (nedokonale uspořádaných grafenových vrstev kolem svislé osy viz Obrázek 42, [40]) polyaromatických pevných látkách, jelikož rostoucí úhel zakřivení působící na soustředné trubic určuje uspořádání uhlíkových atomů (každý z uhlíkových atomů v grafenové vrstvě je směřován buď do středu kruhu, nebo směrem k atomu uhlíku v další vrstvě).



Obrázek 42 Turbostratická struktura – nedokonalé uspořádání grafenových vrstev kolem svislé osy [40].

Částečné nebo úplné 3D krystalové periodicity v uhlíku se dá dosáhnout ve dvou uspořádáních. První obsahuje velké množství soustředných grafenových vrstev. Druhý případ se týká c-MWNTs s hladkými ploškami vyráběné syntézou a následným tepelným ošetřením při vysokých teplotách v inertním prostředí (například 2500°C). Další častou vnitřní strukturou MWNTs je tzv. rybí kost (herringbone texture = h-MWNTs), ve které se grafenové vrstvy odklání od osy nanotrubic (Obrázek 43). Úhel odklonu závisí na výrobních podmínkách (například složení katalyzátoru nebo atmosféry), může se pohybovat od 0° (v tom případě se jedná o strukturu c-MWNTs) až po 90° (v takovém případě již vlákno není trubicí), přičemž se vnitřní průměr může lišit takovým způsobem, až se vytratí původní trubicovitý tvar. Konečná struktura je pak nazývána spíše nanovláknem než nanotubicemi. h-MWNTs se vyrábějí v procesu s katalyzátorem, všeobecně se jedná o tepelné štěpení uhlovodíků za přítomnosti katalyzátoru nebo o disproportionaci CO (viz text dále – metoda chemické depozice par, Obrázek 48). Vznik struktury rybí kosti sice stále ještě není plně objasněn (zda vzniká spíše ze spirálovitého uspořádání jednoho grafenového pruhu nebo ze shluku na sobě nezávislých zkosených kuželovitých grafenových vrstev), nicméně je již známo, že je ovlivněn energetickou výhodností (poskytuje minimální konstantní počet přenosových vazeb během růstu nanotrubic). Dalším typickým rysem je vznik (při různé frekvenci) omezeného počtu grafenových vrstev, které jsou orientovány kolmo k ose nanotrubic, čímž vytvářejí tzv. strukturu bambusu. Nejedná se o vlastní strukturu, ale o důsledek prodlužování buď c-MWNT (bc-MWNT), nebo h-MWNT (bh-MWNT) struktury (Obrázek 44).



Obrázek 43 a, b TEM zobrazení struktury rybí kosti a bambusu MWNT (bh-MWNT, podélný pohled) vyrobený CO disproportionací na Fe-Co katalyzátoru. (a) během růstu. Povrch nanotrubic je vytvořen z volných konců grafenových vrstev. (b) po tepelném ošetření při působení teploty 2900 °C. Obě dvě struktury jsou jasně viditelné. Grafenová zakončení jsou na povrchu ohnutá k sousedním (označeno šipkou), čímž uzavírají přístup do mezer mezi jednotlivými vrstvami [39].



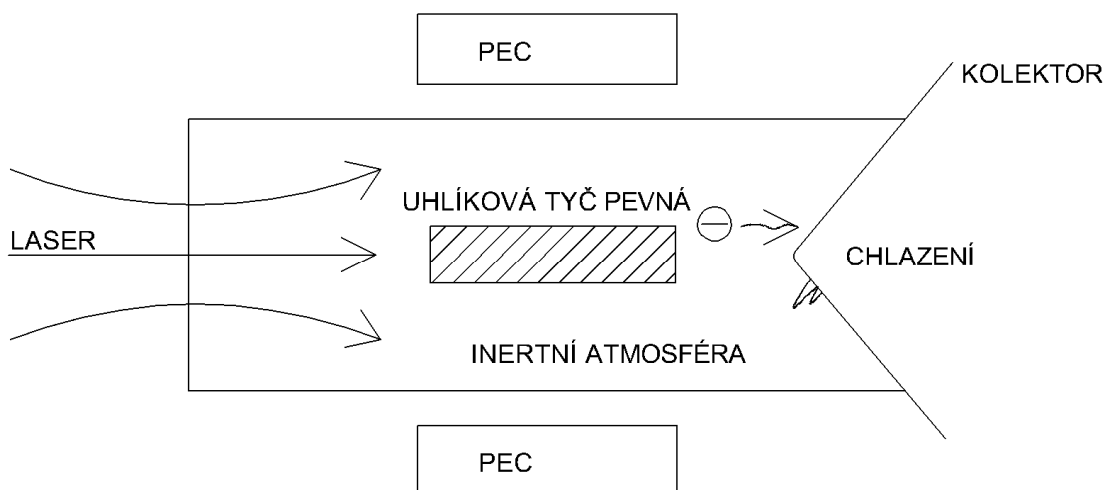
Obrázek 44 a, b TEM zobrazení MWNTs struktury bambusu (podélný pohled). (a) malé zvětšení MWNT nanotrubic bambusu/rybí kost (bh-MWNT) se skoro pravidelnou strukturou. (b) zobrazení s vysokým rozlišením MWNT nanotrubic se soustřednou bambusovou strukturou (bc-MWNT) [39].

Tato vlákna svou strukturou již neodpovídají nanotubicím (ačkoliv jsou dutá), spíše nanovláknům. Dutina totiž není průchodná po celé délce vlákna, jako je tomu u přírodních trubic. Proto se jim v odborných textech někdy říká nanovlákná. Nanovlákná, kterým se určitě nemůže říkat nanotrubic, jsou ta, která jsou vyrobena z na osu vlákna kolmo orientovaných grafenových vrstev a spojena do na sebe navazujících vrstev. Ačkoliv tato vlákna odpovídají h-MWNTs s grafenovou vrstvou/MWNT odklonem = 90°, vznik vnitřní dutiny není možný. Takovým vláknům se proto v literatuře častěji říká “destičková nanovlákná”. Oproti SWNTs jsou poměry délek a průměrů MWNTs (a uhlíkových nanovláken) všeobecně nižší a častěji umožňují zobrazení konců trubic pomocí TEM. Až na c-MWNTs vyráběné z obloukového výboje, které rostou po zpracování bez katalyzátoru, jsou konce nanotubic často spojeny s katalyzátorem, ze kterého jsou vyráběny. MWNTs vlastnosti závisí hlavně na pravidelnosti a orientaci grafenových vrstev v trubici. Orientace grafenových vrstev je záležitostí struktury, jak je uvedeno výše. Pravidelnost grafenových vrstev závisí na

nanostruktura, která je běžně používaná k popisu ostatních polyaromatických uhlíkových materiálů, a která je hodnocena parametry TEM zobrazení s vysokým rozlišením. Obě struktury závisí na zpracovatelských podmínkách a mohou být pozměněny pomocí invazivních degradačních procesů (například oxidace). Nanostruktura může být vylepšena následným tepelným ošetřením při vysokých teplotách (například $> 2000\text{ }^{\circ}\text{C}$) nebo naopak degradována chemickým ošetřením [39].

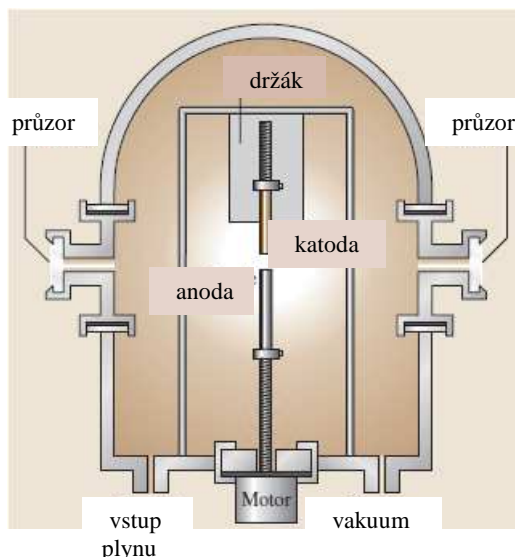
Metody výroby uhlíkových nanotubic:

Nejefektivnější technologií pro výrobu vysoce čistých uhlíkových nanotubic je laserová ablace (omývání, odnesení, odpařování, [41]). Metoda laserové ablace je závislá na volbě parametrů (typ paprsku, hustota vstupní energie, materiál interagujícího tělesa a prostředí, ve kterém dochází k reakci). Touto technikou byly poprvé vyrobeny fulereny, výroba SWNTs následovala o 10 let později. Dnes se k výrobě uhlíkových nanotubic používají dva typy zařízení pro laserovou ablaci: laser, který pracuje s pulsním módem, a další, který pracuje s plynulým módem. Princip laserové ablace je zobrazen na Obrázku 45. Uhlíková pevná tyč je s katalyzátorem umístěna doprostřed trubice vyrobené z křemene a naplněné inertním plynem. Ta je vložena do pece zahřáté na 1200°C . Energie laserového paprsku je soustředěná na uhlíkovou tyč. Tyč se začne vypařovat a grafit začne pod vlivem stejně dopadajícího proudu energie na jeho povrch sublimovat (sublimace je přeměna pevné látky přímo ve skupenství plynné, [42]). Sublimovaný uhlík je odnímán inertním plynem a usazuje se ve formě sazí na různých místech reaktoru: na kónickém, vodou ochlazovaném, měďnatém kolektoru, na zdech křemenné trubice i na zadní straně uhlíkové tyče. Bez katalyzátoru obsahují saze hlavně MWNTs (c-MWNTs). Jejich délka může dosáhnout až 300 nm. Jejich množství a struktura závisí na teplotě pece. Nejlepší výsledek je získán při 1200°C . Při nižších teplotách se snižuje i kvalita struktury (nanotrubice obsahují příliš mnoho defektů). Při přidání jenom několika procent (nebo ještě méně) přechodných kovů (nikl - Ni, kobalt - Co), které se používají jako katalyzátory, dochází k zásadní změně z hlediska získaných výrobků – místo MWNTs se vyrábí SWNTs. Zisk SWNTs silně závisí na druhu kovového katalyzátoru a na vyšší teplotě pece. SWNTs se samy uspořádávají do provazcovitých krystalitů s průměrem 5-20 nm a desítkami až stovkami mikrometrů na délku. SWNTs vyrobené touto technikou jsou čistší než nanotrubice vyrobené jinými technikami. V případě výroby většího množství SWNTs mohou být SWNTs vyrobené metodou obloukového výboje čistší. SWNTs vyráběné touto metodou jsou poměrně drahé.



Obrázek 45 Laserová ablace – uhlíková pevná tyč je vložena do pece s inertním prostředím, která je následně zahřátá na 1200°C. Laserový paprsek je soustředěn na uhlíkovou tyč, sublimovaný uhlík je odnímán plynem a usazuje se ve formě sazí v prostředí trubice – na zadní straně tyče, na stěnách trubice i na vodou ochazovaném měďnatém kolektoru [39].

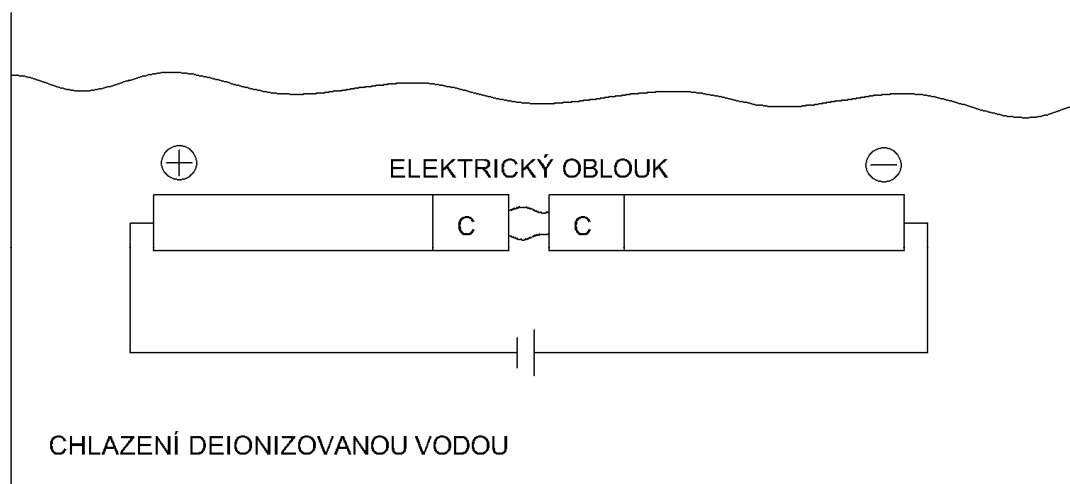
Další metodou výroby uhlíkových nanotrubic je obloukový výboj. Metoda obloukového výboje byla poprvé použita Krätschmerem pro výrobu fullerénů. Při zkoumání vyrobených uhlíkových nanostruktur objevil Iijima kromě fullerénů i nekatalyzovanou formaci uhlíkových nanotrubic typu c-MWNT. Následovalo objevení SWNTs při výrobě nanotrubic s katalyzátorem (v podobě několika přechodných kovů) umístěném na anodě a to ve snaze naplnit během růstu c-MWNTs kovem. Principem této techniky je odpařit uhlík v přítomnosti katalyzátoru (železo - Fe, nikl - Ni, kobalt - Co a další) ve snížené atmosféře inertního plynu (argon – Ar nebo helium - He). Po aktivaci obloukového výboje mezi dvěma elektrodami se ze směsi uhlíkové páry, vzácného plynu (argon - Ar nebo helium - He) a par z katalyzátoru vytvoří plasma. Teplota plasmy se pohybuje kolem 6000 K (5726,85°C). Vypařování je následkem energie přenášené z obloukového výboje na anodu z grafitu s katalyzátorem. Zařízení se skládá z válce o průměru asi 30 cm a délce 1 m. Reaktor má dva ventilký, jeden odvádí původní tlak (0,1 Pa) z komory a druhý umožňuje její naplnění vzácným plynem až k požadovanému pracovnímu tlaku. Příklad zařízení pro metodu obloukového výboje je na Obrázku 46.



Obrázek 46 Zařízení pro metodu obloukového výboje - zařízení se skládá z válce o průměru asi 30 cm a délce 1 m. Reaktor má dva ventilk, jeden odvádí původní tlak z komory a druhý umožňuje její naplnění vzácným plynem až k požadovanému pracovnímu tlaku. Zařízení je vybaveno dvěma safírovými průzory (safír je monokrystal oxidu hlinitého (Al_2O_3), [43]), které jsou vhodné k pozorování probíhajícího elektrického oblouku [39].

SWNTs jsou ukládány (při použití odpovídajícího katalyzátoru) na různých místech reaktoru. MWNTs se utvářejí přímo na katodě, ať už je katalyzátor použitý nebo ne. Elektrody mohou být tvořeny dvěma grafitovými tyčemi o průměru několika milimetrů, mezi kterými je obvykle vzdálenost 1- 3 mm. Rozměry těchto elektrod se liší v závislosti na rozhodnutí výzkumného pracovníka. V určitých případech má katoda větší průměr než anoda, což vede k uspořádání nanotrubic. V jiných případech se používají elektrody o stejném průměru. Celé zařízení může být navrženo horizontálně nebo vertikálně. Při použití katalyzátoru, mohou být použity dva typy anod: grafitová anoda, ve které je koaxiálně umístěna díra o délce několika centimetrů a ve které je smíchán prášek z katalyzátoru a grafitu. Druhou variantou je grafitová anoda, ve které je katalyzátor homogenně dispergován. První varianta je z důvodu jednoduchosti výroby obvyklejší. Ladění procesu (co se týká ziskovosti a kvality nanotrubic) probíhá pomocí použití dalších parametrů jako je například použití dodatečné anody, volba druhu a koncentrace katalyzátoru, volba druhu plasmového plynu, použití tlumícího tlaku plynu, intensity oblouku a vzdálenosti mezi elektrodami [39]. V současné době dochází ke snahám provádět tuto reakci v kapalném prostředí jako je kapalný dusík nebo deionizovaná voda (voda zbavená všech iontově rozpustných látek a křemíku [44]). Důvodem je jednodušší výroba, při které není požadováno čerpací zařízení nebo

uzavřené prostředí. Uvedené zařízení je schopno pracovat plynule. Tato adaptace není prozatím vhodná k průmyslové výrobě. Příklad takového zařízení je na Obrázku 47.

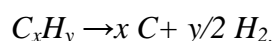


Obrázek 47 Obloukový výboj s metodou chlazení deionizovanou vodou- dvě elektrody jsou vloženy do vody, jedna nebo obě dvě elektrody jsou z pevného uhlíku a mohou obsahovat katalyzátor. Mezi elektrodami vznikne po přívodu napětí elektrický oblouk [39].

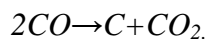
Morfologie vyrobených nanotrubic a efektivnost jejich výroby technikou obloukového výboje závisí na podmínkách zpracování, hlavně na volbě katalyzátoru. Při reakci nedochází pouze k výrobě nanotrubic, ale i k výrobě dalších forem uhlíku (nanočástičky, fullerénové struktury, slabě organizované polyaromatické uhlíky a další). Délka SWNTs je v řádech několika mikrometrů a o průměru okolo 1,4 nm. Podle typu katalyzátoru lze ovlivnit typ nanotrubic a jejich strukturu. Ačkoliv je výroba nanotrubic obloukovým výbojem stále ještě ve vývoji, jedná se o jednu z metod, které se v současné době používají k průmyslové výrobě SWNTs.

Další často používanou metodou výroby uhlíkových nanotrubic je tepelné štěpení plynného uhlíkového zdroje. Tepelné štěpení plynného uhlíkového zdroje (uhlovodíku, oxidu uhelnatého) za přítomnosti katalyzátoru, kterému se běžně říká katalyzovaná chemická depozice par (catalytic chemical vapor deposition, CCVD), bylo známé pro výrobu uhlíkových nanovláken již delší dobu. Až do 90. let byla uhlíková nanovláknina používána jako základní substrát pro následný růst větších (mikrometrových) uhlíkových vláken (tak zvaný parový růst uhlíkových vláken), ke kterému docházelo při procesu chemické depozice par (chemical vapor deposition, CVD) bez katalyzátoru. Syntéza uhlíkových nanotrubic (ať už jednostěnných, nebo mnohostěnných) metodou CCVD zahrnuje katalyzovaný rozklad zdroje obsahujícího uhlík na malé kovové částičky nebo svazky. Tato technika zahrnuje buď heterogenní proces (pokud je

přítomen pevný substrát) nebo homogenní proces (pokud všechno probíhá v plynné fázi). Kovy používané pro tyto reakce jsou přechodové kovy, jako je železo - Fe, kobalt - Co a nikl - Ni. Vzhledem k obloukovému výboji se jedná o proces při nižších teplotách, s formací uhlíkových nanotrubic při teplotách kolem 600°C a 1000°C. Díky nízké teplotě je metoda CCVD vhodnější pro výrobu MWNTs. Oba, homogenní i heterogenní, procesy jsou citlivé na typ a strukturu katalyzátoru a na volbu operačních podmínek. Uhlíkové nanotrubice připravené CCVD metodou jsou mnohem delší (od několika desítek až po stovky mikrometrů) než nanotrubice vyrobené obloukovým výbojem (ty jsou dlouhé pouze několik mikrometrů). V závislosti na experimentálních podmínkách lze vyrábět hustá pole nanotrubic. MWNTs z CCVD procesu obsahují díky nižší pracovní teplotě, která neumožňuje strukturní přeskupení, více defektů než MWNTs z obloukového výboje. Tyto defekty mohou být následně odstraněny tepelným ošetřením ve vakuu nebo inertní atmosféře. CCVD SWNTs se shromažďují do svazků, které mají menší průměr (několik desítek nm) než mají při výrobě elektrickým obloukem a laserovou ablací (kolem 100 nm v průměru). CCVD je z ekonomického hlediska perspektivní metodou výroby uhlíkových nanotrubic pro průmyslové použití. Heterogenní CCVD zpracování je jednoduché a sestává se (kromě pece vytopené na požadovanou teplotu) z přívodu plynu obsahujícího dané množství uhlovodíku (hlavně metan - CH₄, acetylen - C₂H₂, etylen - C₂H₄ nebo benzen - C₆H₆, obvykle ve směsi buď s vodíkem - H₂ nebo inertním plynem jako je argon - Ar) na částičky přechodového kovu (železo, kobalt, nikl). Kovy jsou uloženy na inertní podložce, například sprejováním suspenze kovových částic na podložku, popřípadě jinou metodou. Reakce je chemicky definovaná jako tepelné štěpení za přítomnosti katalyzátoru:

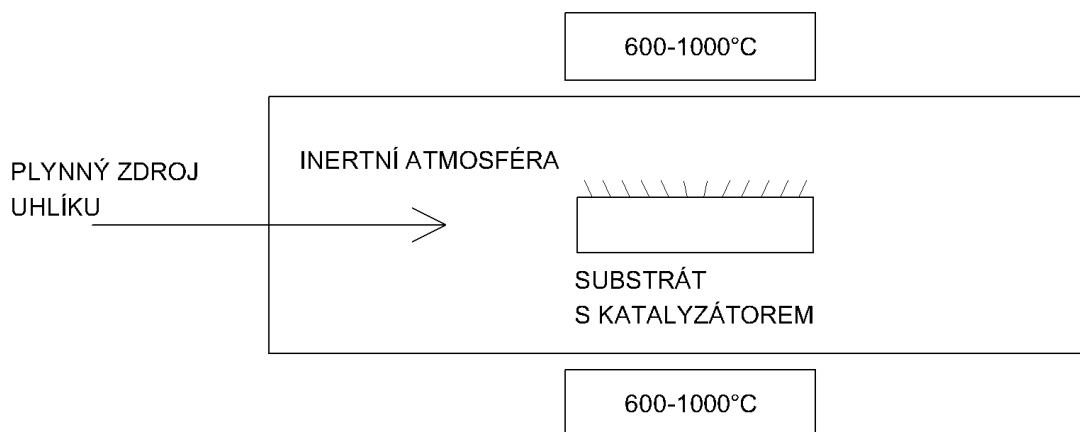


Místo uhlovodíků se může použít oxid uhelnatý, reakce je pak chemicky definovaná jako disporporciace za přítomnosti katalyzátoru:



Ačkoliv může být mechanismus formující SWNTs a MWNTs zcela rozdílný, většina parametrů má na vytváření daného typu nanotrubic podobně důležitou roli. Jedná se zejména o teplotu, dobu reakce, složení plynu a jeho průtok, velikost a typ katalyzátoru. Při dané teplotě začne na povrchu kovových částic katalyzátoru jeho rozklad, který je následován difuzí (proces rozptylování částic v prostoru) právě vytvořeného uhlíku až po dosažení limitní koncentrace uhlíku, kdy začne docházet k precipitaci (srážení [45]). V této fázi začínají vznikat uhlíkové nanotrubice na kovových

částech v rozsahu velikostí několika nanometrů. Jelikož je velikost nanotrubic závislá na velikosti kovových částec (musí být udržovány ve velikosti několika nanometrů), sloučení kovových částec se předchází umístěním katalyzátoru na inertní podložku, která může být tvořena oxidy (oxid hlinitý - Al_2O_3 , oxid křemičitý - SiO_2 , zeolity – hlinitokřemičité minerály s mikroporézní strukturou, hlinitan hořečnatý - MgAl_2O_4 , oxid hořečnatý - MgO a další) nebo grafitem. Nanotrubice mohou být následně oddělené od katalyzátoru. Získané nanotrubice jsou shromažďovány do svazků o malém průměru (méně než 15 nm) s délkou až 100 μm (viz Obrázek 49). Nanotrubice jsou hlavně jednostěnné (SWNTs) a dvoustěnné (double-wall nanotubes = DWNTs) o průměru 1 a 3 nm. Získání čistých nanotubic metodou CCVD vyžaduje (stejně jako u dalších postupů) odstranění katalyzátoru. V současnosti (ačkoliv je možné vyrábět MWNTs v množství vhodném pro průmyslové použití) je výroba SWNTs stále poměrně drahou záležitostí. Příklad zařízení pro metodu CCVD je na Obrázku 48.



Obrázek 48 Katalyzovaná depozice par (CCVD) – do reaktoru je přiváděn zdroj uhlíku v plynné formě, zahříváním dochází k rozkladu katalyzátoru. Na kovových částech katalyzátoru velikosti několika nanometrů začínají vznikat uhlíkové nanotrubice [39].

Homogenní způsob, také se mu říká metoda plovoucího katalyzátoru, se odlišuje používáním pouze plynných zdrojů (bez přítomnosti pevné fáze v reaktoru). Základním principem této techniky je rozložení uhlíkového zdroje (etylén – C_2H_4 , xylén – směs tří izomerů aromatického uhlovodíku (dimethylbenzenu), benzen – C_6H_6 , oxid uhelnatý – CO a další) na částech přechodových kovů velikosti několika nanometrů (železo - Fe, kobalt - Co nebo nikl - Ni), což vede ke vzniku nanotubic. Typický reaktor pro tuto techniku je složený z křemenné trubice umístěné v peci, do které jsou dodávány suroviny v plynné fázi – kovové prekurzory, zdroj uhlíku, vodík a naváděcí plyn (dusík - N_2 , argon - Ar nebo helium - He). Reaktor je zahříván na 700 – 1 200°C. Tato technika

je docela flexibilní a byly jí vyrobeny jak SWNTs, tak i MWNTs (podle použitého druhu plynného uhlíku). Hlavní nevýhodou tohoto procesu je, stejně jako pro heterogenní zpracování, složitost kontrolovatelnosti velikosti kovových nanočástek, což vede vedle nanotrubic i ke vzniku nežádoucích forem uhlíku (amorfní uhlík nebo polyaromatická uhlíková fáze). Příliš velké kovové částčky, které nejsou vhodné pro růst nanotrubic, jsou schopné rozkládat zdroj uhlíku, a vedou ke vzniku enkapsulovaných forem. K vyladění procesu a získání požadované morfologie a struktury nanotrubic musí být kontrolovány stejné parametry jako pro heterogenní zpracování (zdroj uhlíku, teplota reakce, doba reakce, směs přichozích plynů s ohledem na poměr vodíku, který ovlivňuje směr uspořádání nanotrubic (ve smyslu vytvoření c-MWNT nebo h-MWNT), poměr prekurzorů (výchozích látek) a zdroje uhlíku (při nižších hodnotách vznikají SWNTs)). Proces může být vylepšen přidáním dalších sloučenin k reagující plynné fazi, jako je čpavek (vytváří uspořádané nanotrubice) nebo síra (zlepšuje produktivitu). Průmyslové využití není vzhledem k velkému množství parametrů prozatím možné.

Existují i další metody výroby uhlíkových nanotrubic, které využívají jiné tepelné zdroje (například zařízení se solární pecí) [39].



Obrázek 49 Jednotlivé uhlíkové nanotrubice odnímané ze svazku uspořádaných uhlíkových nanotrubic [46].

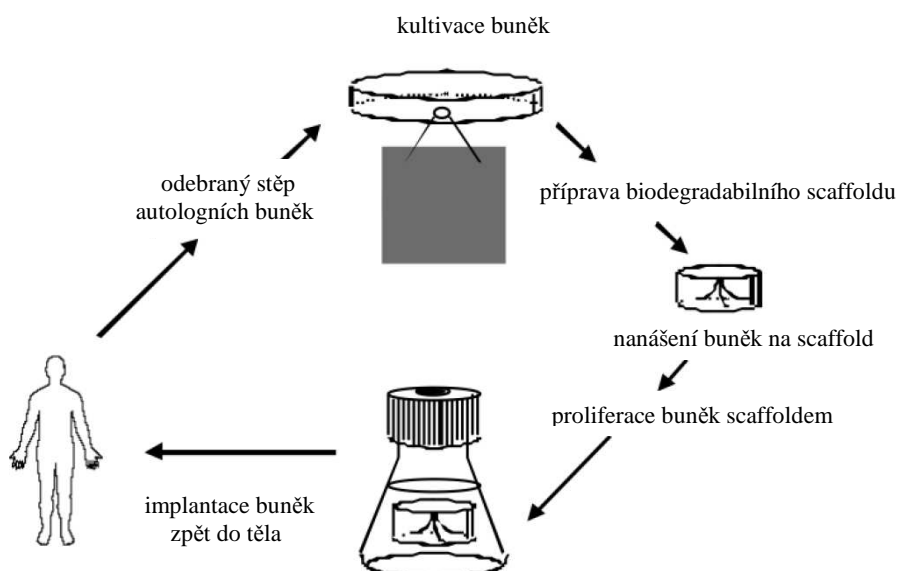
Další typy uhlíkových nanotrubic jsou dvoustěnné uhlíkové nanotrubice (DWNT), které se svou morfologií a vlastnostmi podobají SWNT, přičemž je jejich odolnost vůči chemikáliím značně lepší. Existují i plněné uhlíkové nanotrubice (CSCNTs) s polovodičovými vlastnostmi, které mají díky naplněné mikrostruktuře uhlíkových vrstev.

Vlastnosti uhlíkových nanotrubic (hlavně pevnost, elektrická vodivost a tepelná odolnost) je předurčují k jejich dalšímu použití. Nejvyšší dosažená pevnost v tahu pro jednotlivé mnohostěnné uhlíkové nanotrubice byla 63 GPa [47]. Díky vynikajícím mechanickým vlastnostem jsou uhlíkové nanotrubice používány jako sensory při výrobě

zařízení pro mikroskopii skenování sondou (scanning probe microscopy = SPM), při výrobě televizních a počítačových obrazovek nebo jako podpůrný substrát při katalýze. Již dnes se uvažuje o jejich možném budoucím použití, například pro vesmírné dopravníky a pláště vesmírných lodí nebo letadel. Mezi další použití patří výroba tranzistorů, baterií, integrovaných paměťových obvodů a další [39]. Univerzální struktura, dobré mechanické vlastnosti a elektrická vodivost nanotubic se může využít při dopravě léků a genů do všech částí lidského těla. Například při léčbě nemocí, jako je rakovina, mohou být nanotrubice naplněny lékem a dopraveny k předem určenému místu, kde se lék z nanotrubice uvolní [2]. Konečné použití uhlíkových nanotubic může být omezeno potenciální toxicitou a chováním ovlivněným chemickými úpravami. Omezení toxicity nanotubic je v současné době předmětem zkoumání mnoha laboratoří. Předběžné výsledky poukazují na potíže s vyhodnocováním toxicity tohoto materiálu. Parametry jako je struktura, distribuce velikosti, plocha povrchu, chemické ošetření povrchu, povrchové napětí, stupeň aglomerace a čistota vzorků mají značný vliv na reaktivitu uhlíkových nanotubic. Za určitých podmínek mohou nanotrubice překročit membránové bariéry a neupravené se dostat do orgánů, kde mohou způsobit záněty a fibrotické reakce (zhušťování vaziva ve tkáni). Některé studie ukazují, že CNTs mohou vniknout do lidských buněk, kde akumulují cytoplasmu a vedou k buněčné smrti. Další výsledky pokusů na hlodavcích ukazují, že bez ohledu na proces, kterým jsou CNTs syntetizovány, včetně typů a počtů kovů, které obsahují, mohou způsobit záněty, granulomy epitelu (mikroskopické uzlíky), fibrózy (zhuštění vaziva ve tkáni) a biochemické nebo toxikologické změny v plicích. Porovnávací studie toxicity, ve kterých bylo myším podáno stejné množství testovaného materiálu, ukazují že SWCNTs jsou více toxické než křemen, který patří (při pravidelném vdechování) mezi velmi škodlivé materiály. Jehlovitý tvar vláken CNTs (podobný asbestovým vláknům) zvyšuje obavy, že by plošné použití uhlíkových nanotubic mohlo vést k rakovině pohrudnice, která je asbestem často vyvolána. Ačkoliv je požadován další výzkum, dnes prezentované výsledky jasně ukazují, že za určitých podmínek, hlavně těch zahrnujících dlouhodobé vystavení působení uhlíkových nanotubic, můžou uhlíkové nanotrubice pro lidské zdraví znamenat vážná zdravotní rizika [31].

2.4 Tkáňové inženýrství

Celý proces tkáňového inženýrství se při obvyklém postupu skládá z několika částí. Nejprve je nutné odebrat z těla pacienta (nebo pokusného zvířete) štěp autologních (vlastních) buněk. Dále dochází ke kultivaci buněk in vitro (v laboratoři), k podpoře jejich diferenciaci a k růstu například pomocí růstových faktorů. Současně je nutné vyrobit scaffold (z angličtiny lešení, konstrukce, skelet – vyjadřuje v tkáňovém inženýrství tzv. podpůrnou konstrukci pro růst buněk a celých tkání [48]) požadovaných vlastností. Po dosažení požadovaného množství buněk je nutné tyto buňky nanést na scaffold, sledovat adhezi buněk ke scaffoldu a zajistit jejich proliferaci celým objemem scaffoldu. Po určitém čase kultivace buněk ve scaffoldu je možné implantovat takto připravený materiál přímo na postižené místo, tedy zpět do těla pacienta (či testovaného zvířecího modelu), vše viz Obrázek 50. Buňky vpravené zpět do těla vytvářejí vlastní vlákna. V určitém čase po implantaci je nutná úplná degradace scaffoldu – podpůrného materiálu- která musí odpovídat době potřebné pro vytvoření nové přirozené tkáně [48]. V současné době je nejvíce pokročilý výzkum scaffoldů pro tkáňové inženýrství kolenní chrupavky a jater. Další scaffoldy ve výzkumu se týkají tkáňového inženýrství plic, ledvin, močového měchýře, kostí, srdečních svalů, kůže a dalších orgánů [49].



Obrázek 50 Princip tkáňového inženýrství - nejprve je nutné odebrat z těla pacienta (nebo pokusného zvířete) štěp autologních buněk. Následně dochází ke kultivaci buněk in vitro, k podpoře jejich diferenciaci a k růstu například pomocí růstových faktorů. Současně je nutné vyrobit scaffold (podpůrnou konstrukci pro růst buněk a celých tkání) požadovaných vlastností. Po dosažení požadovaného množství buněk je nutné tyto buňky nanést na scaffold, sledovat adhezi buněk ke scaffoldu a zajistit jejich proliferaci celým objemem scaffoldu. Po určitém čase kultivace buněk ve scaffoldu je možné implantovat takto připravený materiál zpět do těla pacienta (či testovaného zvířecího modelu) [50].

2.5 Vlastní řešeršní část

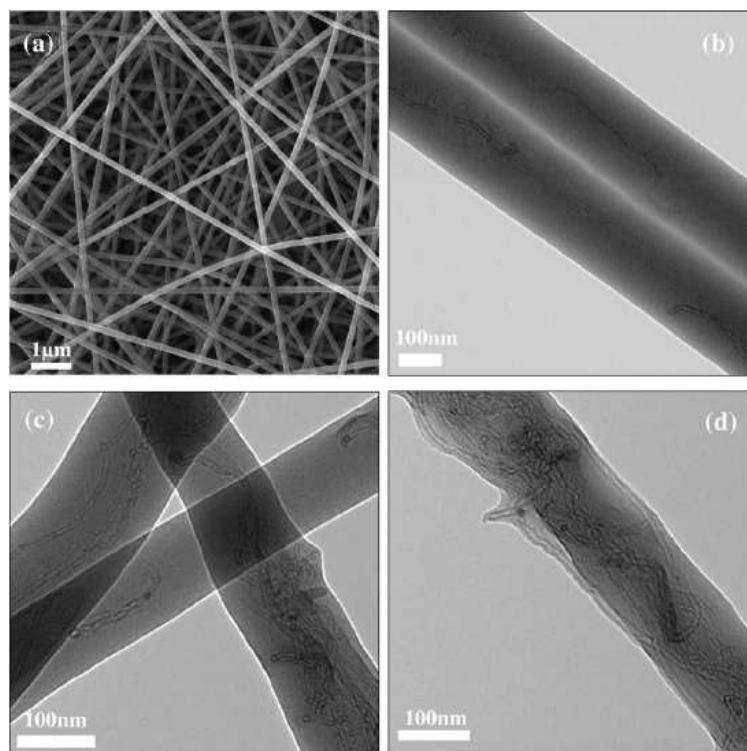
Následující část je věnována konkrétním případům výroby kompozitních nanovláken s CNTs, výroby orientovaných kompozitních nanovláken a výroby scaffoldů pro tkáňové inženýrství nervů.

2.5.1 Výroba kompozitních nanovláken s CNTs

Výroba kompozitních nanovláken s uhlíkovými nanotubicemi je předmětem zkoumání mnoha laboratoří [2]. Proces zvlákňování zabezpečí v polymeru stabilizaci rozmíchaných uhlíkových nanotubic. Vyrobená vlákna mají větší pevnost v tahu a elektrickou vodivost než vlákna bez CNTs [7]. Zvlákňování probíhá dle literatury nejčastěji z roztoků PAN v organických rozpouštědlech (většinou dimethylformamidu), které ale nejsou, z hlediska ochrany životního prostředí, svým toxickým složením nejvhodnějším materiálem [51]. Dalším často používaným roztokem je vodný roztok PVA smíchaný s uhlíkovými nanotubicemi s různou povrchovou úpravou (OH, COOH), která zajistí lepší dispergaci v roztoku. Důležitými parametry při zvlákňování z roztoku jsou viskozita, povrchové napětí a vodivost. Změnou těchto parametrů může dojít i ke změně vytvářených vláken včetně jejich vlastností (nižší povrchové napětí vede k lepším zvlákňovacím podmínkám a je zároveň velmi důležité při vmíchávání nanotubic do roztoku). Jak se ukázalo, CNTs s OH povrchovou úpravou jsou pro zvlákňování z roztoku PVA vhodnější, jelikož při jejich rozmíchávání v roztoku nedocházelo k vytváření shluků. Povrchové napětí se dodatečně snižovalo přidáváním ethanolu do vodného roztoku. To mělo za následek snížení vodivosti, která je pro elektrostatické zvlákňování velmi důležitá, a zvýšení průměru vláken [7]. Důležité je i vytvoření polárních vazeb a vodíkových můstků mezi částicemi nanotubic a polymerními řetězci. Tyto vazby vedou k dlouhé stabilitě roztoků, které jsou použitelné ještě půl roku po smíchání. Nanotubice se v roztocích rozmíchávají pomocí ultrazvukových vibrací, které napomáhají rozbíjení shluků. Některé roztoky s mnohostěnnými uhlíkovými nanotubicemi bez úpravy povrchu není možné Nanospiderem zvláknit [52].

MWNTs s NH_2 povrchovou úpravou byly použity jako kompozit při elektrostatické výrobě vodivých vláken z polyamidu 6, 6, a to v rozsahu od 0 do 20 hmotnostních % (viz Obrázek 51). Jako rozpouštědlo se použila kyselina mravenčí –

MWNTs s NH_2 povrchovou úpravou mají v kyselině mravenčí výbornou dispergovatelnost a polyamid 6, 6 je v ní také dobře rozpustný. Vláknina byla po zvláknění vyhodnocena z hlediska vodivosti. Výzkum potvrdil, že přidání MWNTs do vláken zvýší jejich vodivost. Do 6 hmotnostních % přidávaných MWNTs nedošlo k výrazné změně vodivosti, ovšem v rozmezí od 10 do 20 hmotnostních % byl nárůst vodivosti znatelný [20].



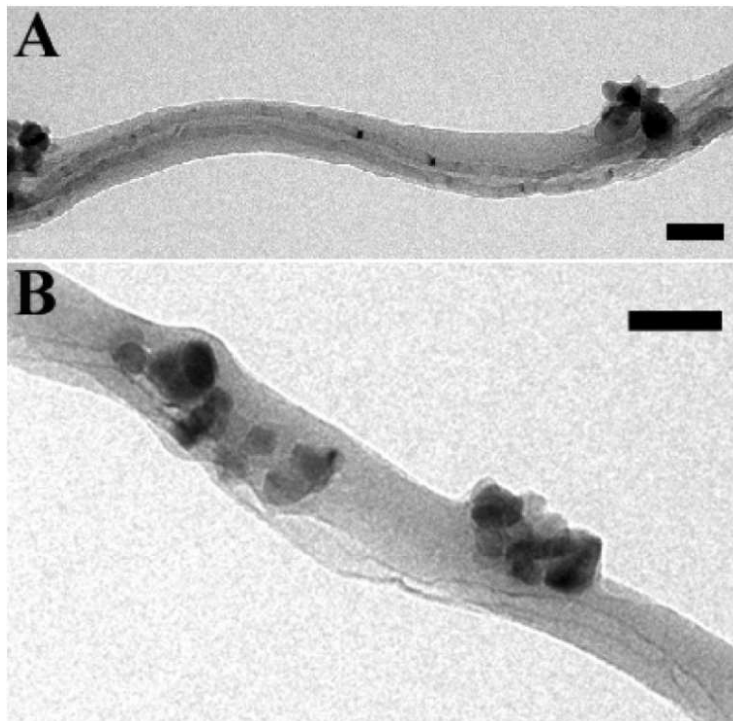
Obrázek 51 SEM zobrazení (a) polyamidových 6, 6 vláken bez MWNTs z 15 hmotnostními % polyamidu 6, 6, (b), (c) a (d) jsou TEM zobrazení MWNTs/polyamidových 6, 6 kompozitních nanovláken s 2 hmotnostními %, 10 hmotnostními % a 20 hmotnostními %. Všechny vzorky byly zvlákněny při 18 kV na zařízení pro zvláknění z injekční stříkačky ve vzdálenosti 10 cm od kolektoru. Rychlost toku roztoku byla 0,4 ml/hod [20].

Elektrostatické zvláknění bylo použito i na výrobu polyetylén oxidových (PEO)/SWNTs kompozitních vláken. Disperze SWNTs ve vodném roztoku bylo dosaženo použitím amfifilního (skládajícího se z části hydrofilní, představované polární skupinou, a z části hydrofobní, představované uhlovodíkovým řetězcem. To způsobuje, že jsou tyto látky ve vodě rozpustné, hromadí se ve fázovém rozhraní a snižují povrchové napětí [53].) kopolymeru styrenu a maleátu sodného. Uspořádání nanotrubic v nanovlákněch se ukázalo být závislé na kvalitě disperzí. Dobře rozdispergované a oddělené nanotrubice byly ve vlákněch orientované uspořádaně, zatímco zapletené, neodělené nanotrubice zůstaly ve vlákněch ve formě shluků [51].

Během pokusů byla zaznamenána lepší orientace uhlíkových nanotrubic v PAN nanovlákněch než v PAN v nevlákněné formě. Způsob uvolňování nanotrubic ve

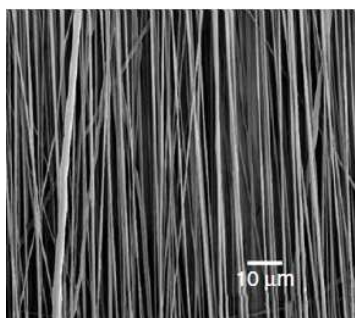
vláknech je tedy dalším důležitým parametrem při zvlákňování kompozitních nanovláken. Zároveň bylo zjištěno, že se mezi zoxidovaným porchem uhlíkových nanotubic a negativně nabitými funkčními skupinami ($-\text{C}\equiv\text{N}:$) vytvořily komplexy přenášející náboj, což vedlo k vytvoření pevné vazby mezi nanotubicemi a okolním polymerem. Výsledkem vysoké anizotropie nanotubic ve vláknech a vytvoření vodivých komplexů byla zlepšená elektrická vodivost, lepší mechanické vlastnosti, vyšší teplota tepelné deformace, tepelná a rozměrová stabilita [54].

Připravují se i kompozitní vlákna s CNTs a jinými částicemi, jako jsou například částice oxidu titaničitého (TiO_2), viz Obrázek 52. Kompozitní vlákna s oxidem titaničitým a MWNTs jsou zvlákňována z PAN. TiO_2 a MWNTs se ve vláknech vzájemně dotýkají. Tato vlákna jsou zvlákňována za účelem výroby nové formy fotokatalytického reaktoru (pomocí ultrafialového záření, $\lambda < 390 \text{ nm}$, dochází k degradaci organických struktur na povrchu TiO_2 , a zároveň ke srážení vodních kapiček na povrchu TiO_2 , což vede ke vzniku průhledného molekulárního filmu, po kterém další voda snadno stéká. Kombinací těchto dvou vlastností mají částice TiO_2 na světle samočistící a desinfekční účinky, mohou tedy sloužit k hygienickým úpravám povrchů, čištění a desinfekci vzduchu, vody a zeminy [55, 56]).



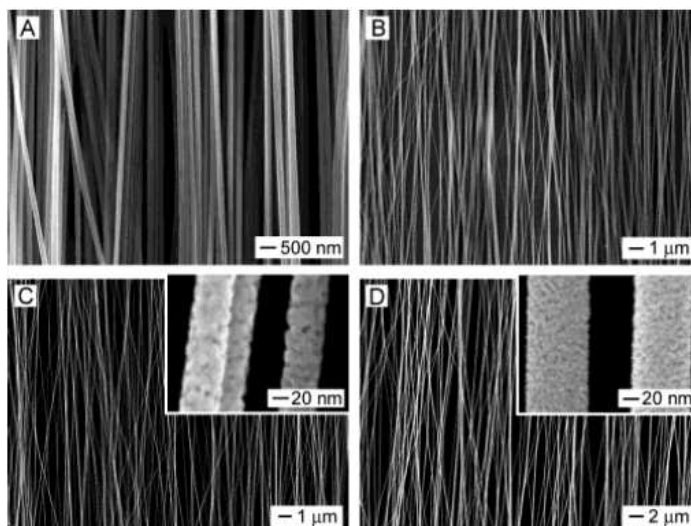
Obrázek 52. TEM zobrazení kompozitních nanovláken PAN s uspořádanými MWNTs a částicemi TiO_2 . Měřítko je 50 nm [56].

Orientace nanovláken je velice důležitá hlavně při jejich použití v tkáňovém inženýrství při pěstování buněk, kdy vytváří podmínky pro buněčný růst, vzájemnou adhezi a další. Orientací nanovláken během elektrostatického zvlákňování lze ovlivňovat i orientaci buněk, jelikož buňky rostou ve směru orientace vláken. Orientace buněk následně ovlivňuje fungování celé tkáně [57]. Vše záleží na pěstovaném druhu buněk a jejich struktuře. Například pro pěstování chondrocytů pro tkáňové inženýrství kolenní chrupavky je vhodnější 3D neuspořádaná orientace nanovláken, pro neurony je lepší uspořádaná orientace [58]. Příklad orientovaných nanovláken je na Obrázku 53.



Obrázek 53 SEM zobrazení orientovaných polykaprolaktonových (PCL) nanovláken vyrobených zvlákňováním na rotující kolektor. Měřítko je 10 μm [57].

Elektrostatické zvlákňování bylo použito na výrobu orientovaných nanovláken z organických polymerů (PAN, PVP = polyvinylpyrolidon), keramiky a kompozitních materiálů pomocí kolektoru sestaveného ze dvou elektrod oddělených mezerou v řádech několika mikrometrů až po několik centimetrů. Nanovlákná se mezi elektrodami rovnala orientovaně. Jelikož byla mezi elektrodami mezera, mohla být nanovlákná odebrána na podložce a podrobena dalšímu zpracování. Během pokusů bylo zjištěno, že menší mezera a delší doba zvlákňování vedou k vytvoření většího množství vláken viz Obrázek 54 [9].



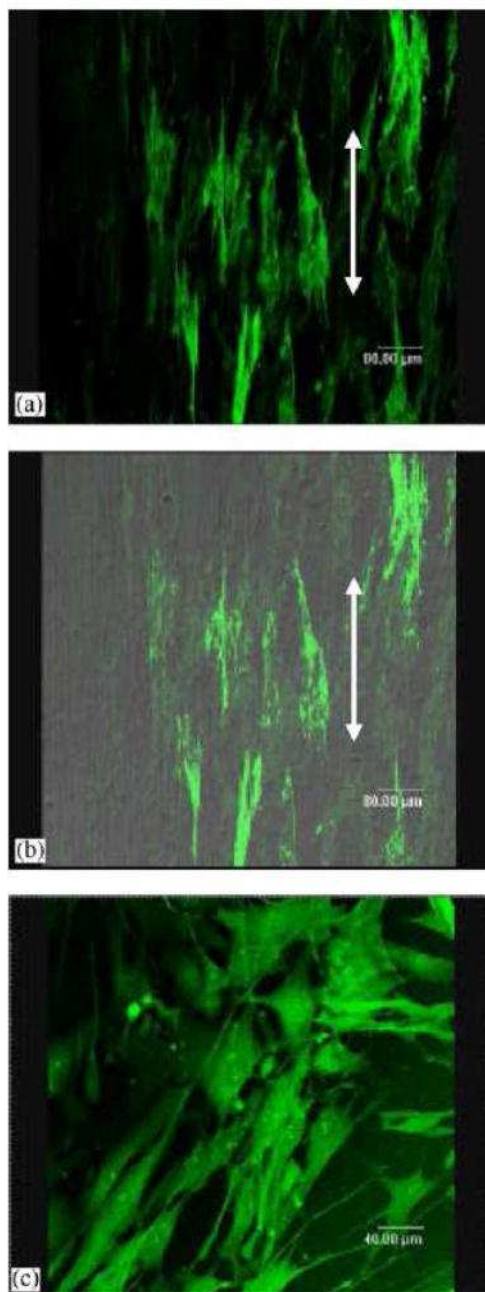
Obrázek 54 SEM zobrazení orientovaných nanovláken různých materiálů: (A) uhlíková nanovláčka, (B) TiO_2/PVP , (C) TiO_2 a (D) SnO_2 s antimonem (Sb). Vložená okna zobrazují zvětšené SEM zobrazení těchto keramických nanovláken [9].

Mezi výzkum zabývající se zvlákněním kompozitních orientovaných nanovláken s CNTs patří zvláknění vodivého poly(3,4-ethyldioxythiophen)/polystyren sulfonátu, PEDT/PSS, s PAN a SWCNTs. Vláčka byla ukládána na kolektor ve tvaru rotujícího disku. Přidání SWCNTs vedlo k navýšení elektrické vodivosti a pevnosti v tahu až o 50% [51].

Další uspořádaně orientovaná vlákna z PAN s MWCNTs byla po zvláknění karbonizována při 750°C . Během karbonizace došlo k menšímu srážení vláken než je tomu u vláken bez nanotrubic [51].

Mezi další výzkumy spojené s přípravou orientovaných nanovláken patří i zvláknění pavoučího hedvábí s 1 hmotnostním % SWCNTs. Zvlákněná nanovláčka byla orientovaná jak uspořádaně, tak i náhodně, a dosahovala délky 10 nm. Po zvláknění došlo k navýšení pevnosti vláken až na 20 GPa, přičemž původní hodnota pro samotné hedvábí byla 4 GPa [51].

Scaffold z kopolymeru polymléčné kyseliny a polykaprolaktonu, P(LA-CL), s uspořádanými nanovláčky byl použit ve studii pěstování svalových buněk. Uspořádaná struktura scaffoldu vedla k lepší adhezi (přilnavosti) a proliferaci (množení) buněk během jejich růstu viz Obrázek 55 [59].



Obrázek 55 Zobrazení barevně zvýrazněných svalových buněk konfokálním mikroskopem po 1 denní kultivaci: (a, b) na uspořádaném nanovlákněném scaffoldu, (c) na polystyrenovém podkladu pro porovnání [59].

2.5.3 Výroba scaffoldů pro tkáňové inženýrství nervů

Nemoci nervového systému mohou být způsobeny degenerací nebo zraněním nervových buněk nebo změnou jejich prostředí. Nemoci jako je Parkinsonova choroba mohou vyžadovat nahrazení nefunkčního dávkování potřebné neurochemikálie (dopaminu). Ostatní patologie jako je zranění nervů nebo jejich opětovné spojení může vyžadovat regeneraci nervové tkáně. Snahy v navrhování a sestavení neuronového

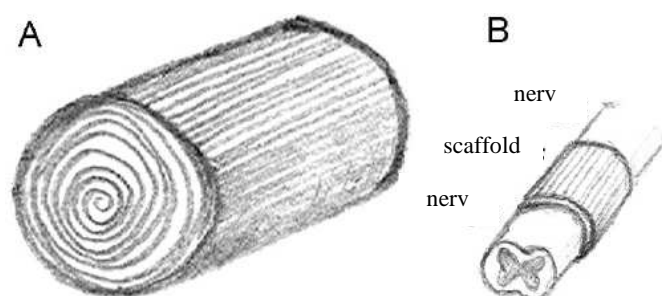
systemu se zaměřují hlavně na funkční nahrazení chybějících neuroaktivních komponent, záchranu nebo regeneraci poškozené neuronové tkáně a neuronové vazebné části. V minulosti byla biokompatibilita biomateriálů hodnocena hlavně podle vzájemné reakce materiálu a prostředí po implantaci do lidského těla. Nicméně se později ukázalo, že je lepší využít reakce hostitelské tkáně při vývoji mechanických, chemických a strukturních vlastností implantovaného biomateriálu. Jedná se hlavně o použití vlastností jako je polopropustnost, elektrické vlastnosti, případně pokrývání stěn implantovaného biomateriálu neuroaktivními komponenty, které mohou být následně uvolněny do regenerujícího se prostředí. Cílem je odhadnout požadovanou reakci hostitele a využít procesů v organismu po implantaci [60].

Uspořádání nervů závisí na povrchu implantovaných polymerních vodivých materiálů. Materiál s hladkým povrchem vede k vytvoření oddělených nervových provazců, které se mohou volně pohybovat, nerovný povrch materiálu vede k vytvoření neuronových svazků roztroušených v celé implantované tkáni. Molekulová váha použitého biomateriálu také ovlivňuje nervovou regeneraci – jedná se zřejmě o vliv reakce při výměně molekul mezi implantovanou tkání a vnějším hojícím se prostředím. Vnější prostředí se skládá z humorálních faktorů (faktorů souvisejících s tekutinami v organismu [61]), které mohou hrát důležitou roli při hojivých procesech v organismu [60].

In vivo (v živém organismu, v těle) regenerace periferního nervového systému může být ovlivněna elektrickým proudem vyrobeným pomocí implantovaného materiálu (například pomocí tkáně kanálkovitého tvaru zaplněné elektrodami, polytetrafluorethylen – PTFE - zelektronovaných trubic nebo piezoelektrické polymerní tkáně ve tvaru kanálků). Biodegradabilní podpůrné nervové tkáně se rozpadnou po ukončení regenerace, proces degradace trvá většinou 4-12 týdnů. Během procesu degradace biomateriálu by neměli jednotlivé produkty rozkladu ovlivňovat probíhající regenerativní procesy v organismu. Struktura regenerujícího se prostředí může mimo jiné ovlivnit dobu potřebnou k regeneraci. Během pokusů byla zkoumána regenerace sedacího nervu u krysy, který byl opatřen 15 mm mezerou. Při regeneraci se nejvíce osvědčila síť z orientovaných vláken. Nicméně i matrice známé podporou růstu neuronů in vitro mohou blokovat nervovou regeneraci, pokud nejsou zajištěny optimální fyzikální podmínky. Proto mohou strukturní, chemické a biologické aspekty implantovaného materiálu hrát důležitou roli při regeneraci. Na základě několika studií bylo zjištěno, že k rychlejší regeneraci pomáhá hydrogel, který dokáže zadržovat vodu

až ve stonásobku své hmotnosti a tu následně postupně uvolňovat. Proto je vhodné dodatečně upravovat i implantovaný materiál. Při regeneraci se musí vzít v úvahu i stavba těla neuronu, jejíž jednotlivé části mohou celý proces podstatně ovlivnit. Vhodná kombinace implantovaného materiálu a růstových faktorů může vytvořit vhodné podmínky vedoucí k regeneraci nervového systému. Proto se při poškození nervové soustavy upravuje regenerativní kapacita hostitele pomocí biodegradabilní vodivé tkáně nebo pomocí elektrické stimulace. Další variantou je změna jednotlivých komponent regenerujícího se prostředí, což může významně vylepšit regeneraci a pomoci v rekonstrukci poškozených nebo zničených nervových tkání. Pokroky ve výzkumu molekulární a buněčné biologie nabízejí možná řešení funkčních náhrad různých tkání nervové soustavy. Navrhování a výroba polymerních hydrogelů a polymerních scaffoldů odpovídající velikostem buněk je také důležitá a to jak in vitro, tak in vivo [60].

Vzhledem ke struktuře neuronů a jejich vzájemných interakcí je nutné, aby byly pěstovány ve scaffoldech s uspořádanou strukturou. Nesení elektrického vzruchu indikuje pro scaffoldy podmínku elektrické vodivosti. Scaffoldy by měly být biokompatibilní a biodegradabilní, volba vhodného materiálu může mít na regeneraci tkáně výrazný vliv. Jejich struktura by měla podporovat proces regenerace. Jelikož se ve většině případů zranění nervové tkáně jedná o velmi malé úseky, můžeme z hlediska výroby uvažovat velikosti scaffoldu v řádech cm. V případě in vivo testování se používá poškození nervové tkáně velikosti kolem 15 mm, to znamená, že pro výzkum postačí scaffold čtvercového tvaru velikosti 2x2 cm. Čtvercový tvar scaffoldu byl zvolen s ohledem na současné testování in vivo – zraněná nervová tkáň se obalí scaffoldem a to tak, aby se na obou koncích scaffold dotýkal neporušené tkáně (viz Obrázek 56B). Aby nedocházelo k zvrásnění scaffoldu z náhodně orientovaných vláken, které by mohlo vést k růstu nervových buněk nežádoucím směrem, je nutné scaffold kolem nervové tkáně několikrát obtočit. Mluvíme pak o vícevrstevném scaffoldu (viz Obrázek 56A). Scaffoldy se mimo jiné testují ve formě 3D (například pěny).



Obrázek 56 (A) vícevrstvý scaffold z náhodně orientovaných vláken. (B) scaffoldem obalená nervová tkáň. Pod scaffoldem se nachází poranění velikosti 15mm. Scaffold ránu kryje a zároveň přesahuje na obou stranách [62].

Při několika pokusech bylo prokázáno, že jsou vlákna vhodnější strukturou pro růst nervové tkáně než scaffoldy ve tvaru filmů. Níže je uvedený přehled použitých polymerů a podmínek zvláknění při výrobě scaffoldů pro nervovou regeneraci [15]. Pod Tabulkou 1 jsou uvedeny výsledky při pěstování neuronů na uvedených vláknech.

Tabulka 1 Nanovláknenné scaffoldy pro regeneraci nervů – přehled použitých polymerů, podmínek zvláknění a dosažené průměry vyrobených nanovláken. Ve zdroji je popsán typ buněk pěstovaných IN VITRO a IN VIVO modelech. Nejčastěji byly používány kmenové buňky nebo autologní krysí buňky [15]. Z hlediska potřeb této diplomové práce (co se týká použitých materiálů) je nejzajímavější testování IN VIVO zvlákněného PCL v 15 hmotnostních % chloroformu. Vyrobená vlákna dosahovala průměru 2,5 – 8 μm a byla náhodně orientovaná.

Polymer	Rozpouštědlo	Průměr vláken
IN VITRO		
Poly-L-mléčná kyselina (PLLA)	10 hm. %, Chloroform	500 nm (uspořádaná, náhodně orientovaná vl.)
	1 hm. %, DCM : DMF (dichlormetan : dimetylformamid) (7:3)	272±77 nm (náhodně orientovaná vl.)
	1 – 5 hm. %, DCM : DMF (7:3)	250 nm (1 hm. %, náhodně orientovaná vl.)
		1,5 μm (3 hm. %, náhodně orientovaná vl.)
		300 nm (2 hm. %, uspořádaná vl.)
		1,5 μm (5 hm. %,

		uspořádaná vl.)
	10 hm. %, HFP (1,1,1,3,3,3 hexafluoroisopropanol)	100 – 500 nm (náhodně orientovaná vl.)
	10 hm. %, THF (tetrahydrofuran) : DMF (1:1)	0,51±0,38 μm (náhodně orientovaná vl.)
	15 hm. %, DCM : THF (7:3)	4,3±0,5 μm (náhodně orientovaná vl.)
Poly (ε-kaprolakton) (PCL)	16 hm. %, DCM : metanol (4:1)	1.03±0.03 μm (uspořádaná vl.)
		2,23±0,08 μm (náhodně orientovaná vl.)
	20 hm. %, DCM : DMF (4:1)	250 nm (uspořádaná vl.)
	9 hm. %, chloroform : metanol (75:25)	559±300 nm (uspořádaná vl.)
	15 hm. %, chloroform : metanol (75:25)	630±40 nm (náhodně orientovaná vl.)
	6 hm. %, HFP	431±118 nm (náhodně orientovaná vl.)
	12 hm. %, DCM : DMF (1:1)	0,95-1,26 μm (náhodně orientovaná vl.)
PCL/želatina	6 hm. %, HFP	PCL/želatina 50:50: 113±33 nm
		PCL/želatina 70:30: 189±56 nm (náhodně orientovaná vl.)
PCL/kolagen	75:25 hm. %, HFP	541±164 nm (uspořádaná vl.)
PCL/chitosan	75:25 hm. %, HFP a TFA	190±26 nm (náhodně

	(kyselina trifluoroctová) / DCM	orientovaná vl.)
Poly (D,L-mléčná-ko-glykolická kyselina) (PLGA)	50 hm. %, DMF / THF (1:1)	3-5 μm (náhodně orientovaná, uspořádaná vl.)
	10 hm. %, THF (1:1)	0,76 \pm 0,30 μm (náhodně orientovaná vl.)
Poly-L-laktid (PLA)	3 hm. %, chloroform	524 \pm 305 nm (uspořádaná vl.)
Poly (e-kaprolakton-ko-etyl-etylenfosfát) (PCLEEP)	12 hm. %, DCM	5,01 \pm 0,24 μm (uspořádaná vl.)
Poly (3-hydroxybutyrát) (PHB)	14 hm. %, chloroform	3,7 \pm 1,7 μm (uspořádaná vl.)
Poly (3-hydroxybutyrát-ko-3-hydroxyvalerát) (PHBV)	14 hm. %, chloroform	2,3 \pm 2,1 μm (náhodně orientovaná vl.)
Poly (akrilonitril-ko-methylakrylát) (PAN-MA)	18 hm. %, DMF	400-600 nm (uspořádaná vl.)
Kopolymer methyl metakrylátu (MMA) a akrylové kyseliny (AA) (PMMAAA)	8 hm. %, aceton	450 \pm 88 nm (náhodně orientovaná vl.)
Polydioxanon (PDS)	10 hm. %, HFP	2-3 μm (náhodně orientovaná, uspořádaná vl.)
Polyamid	komerčně dostupné	180 nm (náhodně orientovaná vl.)
Chitosan	8 hm. %, TFA : DCM (75:25)	450 \pm 48 nm (náhodně orientovaná vl.)
IN VIVO		
Poly (e-kaprolakton-ko-	12 hm. %, DCM	5,08 \pm 0,05 μm

etyl-etylenfosfát) (PCLEEP)		(uspořádaná vl.)
PCL/PLGA (polymléčná- ko-glykolická kyselina)	5,5 hm. % PCL a 4 hm. % PLGA, chloroform : metanol (3:1)	140 – 500 nm (náhodně orientovaná vl.)
Poly (e-kaprolakton) (PCL)	15 hm. %, chloroform	2,5 - 8µm (náhodně orientovaná vl.)
Poly (akrilonitril-ko- metylakrylát) (PAN-MA)	18 hm. %, DMF	400 – 600 nm (uspořádaná vl.)
Polyamid	komerčně dostupné	180 nm (náhodně orientovaná vl.)
Chitosan	6,4 hm. %, TFA : DCM (4:1)	700±502 nm (náhodně orientovaná vl.)

Použité materiály v in vitro studiích se dají rozdělit do tří skupin: syntetické materiály, přírodní materiály a biosyntetické materiály.

Z biokompatibilních syntetických materiálů byly použity polyestery jako je polyglykolová kyselina (PGA), poly-L-mléčná kyselina (PLLA), polykaprolakton (PCL), poly (3-hydroxybutyrát), (PHB), a jejich kopolymery. Polyestery byly při degradaci esterové vazby hydrolýzou v organismu nejméně toxické.

Další polymery jako jsou polydioxanon (PDS) a poly (akrylonitril-ko-methylakrylát), (PAN-MA), podporovaly sice buněčný růst neuronů, ale měly horší výsledky při udržení životaschopnosti a dalšího množení buněk. Z přírodních materiálů se jednalo hlavně o kolagen, želatinu, laminin a chitosan.

U chitosanových vláken se smyslové funkce začaly znovu objevovat již po 8 týdnech po implantaci. Chitosanová vlákna ale nebyla z hlediska slabých mechanických vlastností (hlavně pevnosti) nejvhodnějším materiálem pro růst neuronů.

Biosyntetické materiály jsou kombinací syntetických a přírodních materiálů, ve kterých převládají lepší mechanické vlastnosti, než u přírodních materiálů, a lepší biokompatibilita, než u syntetických materiálů.

Z tohoto hlediska byla použita polyamidová (PA) nanovlákna s povrchovou úpravou neuroaktivními peptidy, která vedla k růstu neuronů.

Kolagen byl konjugován na elektrostaticky zvlákněná nanovlákna kopolymeru metyl metakrylátu (MM) a akrylové kyseliny (AA), (PMMAAA), a to v různém množství (od 0% do 5,7%). V závislosti na obsahu kolagenu se navýšil i počet a životaschopnost vypěstovaných neuronových buněk.

Buňky vypěstované na PLLA nanovlákních s lamininem měly mnohem lepší vlastnosti než ty vypěstované na PLLA vláknech bez lamininu.

Buňky pěstované na nanovlákních ze směsi chitosanu a PCL mnohem lépe a rychleji pokryly celý scaffold. V porovnání s chitosanovými vlákny došlo i k navýšení pevnosti v tahu a mezi deformace.

Hydrofilnost scaffoldů z PCL byla vylepšena přidáním želatiny a to v poměrech 70:30 a 50:50. Nejlepších výsledků pro pěstování neuronů dosáhly scaffoldy s poměrem 70:30. Při poměru 50:50 nebyl scaffold dostatečně pevný a k jeho degradaci docházelo rychleji, než je pro regeneraci nervové tkáně potřeba.

Při porovnání nanovláken PCL a PCL/kolagen bylo zjištěno, že jsou pro migraci a lepší orientaci pěstované nervové tkáně vhodnější nanovlákna PCL/kolagen.

Studie prokázaly, že použití biopolymeru vede (i přes poměrně významné snížení doby degradace a mechanických vlastností scaffoldu ze syntetického polymeru) k výraznému zlepšení vlastností scaffoldu pro růst neuronů. Elektrostaticky zvlákněné scaffoldy s uspořádanými vlákny ovlivnily při in vitro studiích (na rozdíl od scaffoldů s náhodně orientovanými vlákny) orientaci a uspořádání nervových buněk [15].

Počet in vivo studií zdaleka nedosahuje takové variability a kvantity jako je tomu pro in vitro studie.

Pro léčbu poškození nervové krysí tkáně byl použitý PA scaffold z náhodně orientovaných vláken. Ačkoliv došlo po 3 týdnech k růstu neuronů, orientace jejich růstu byla ovlivněna zvrásněním scaffoldu. Z tohoto důvodu bylo doporučeno do budoucna používat scaffold tvořený více vrstvami.

Vlákněné trubice z PLGA/PCL náhodně orientovaných vláken byly použity k přemostění poškozené krysí nervové tkáně. Již po 4 měsících bylo zaznamenáno prorůstání nervových buněk scaffoldem. Testování smyslových funkcí naznačilo počáteční stádium regenerace nervové tkáně.

Scaffold z uspořádaných vláken, který byl na nějakou dobu podroben působení polysulfonu (PSU), obsahoval v průřezu mnohem více nervových buněk než scaffold z náhodně orientovaných vláken se stejnou úpravou. Při kontrole smyslových funkcí

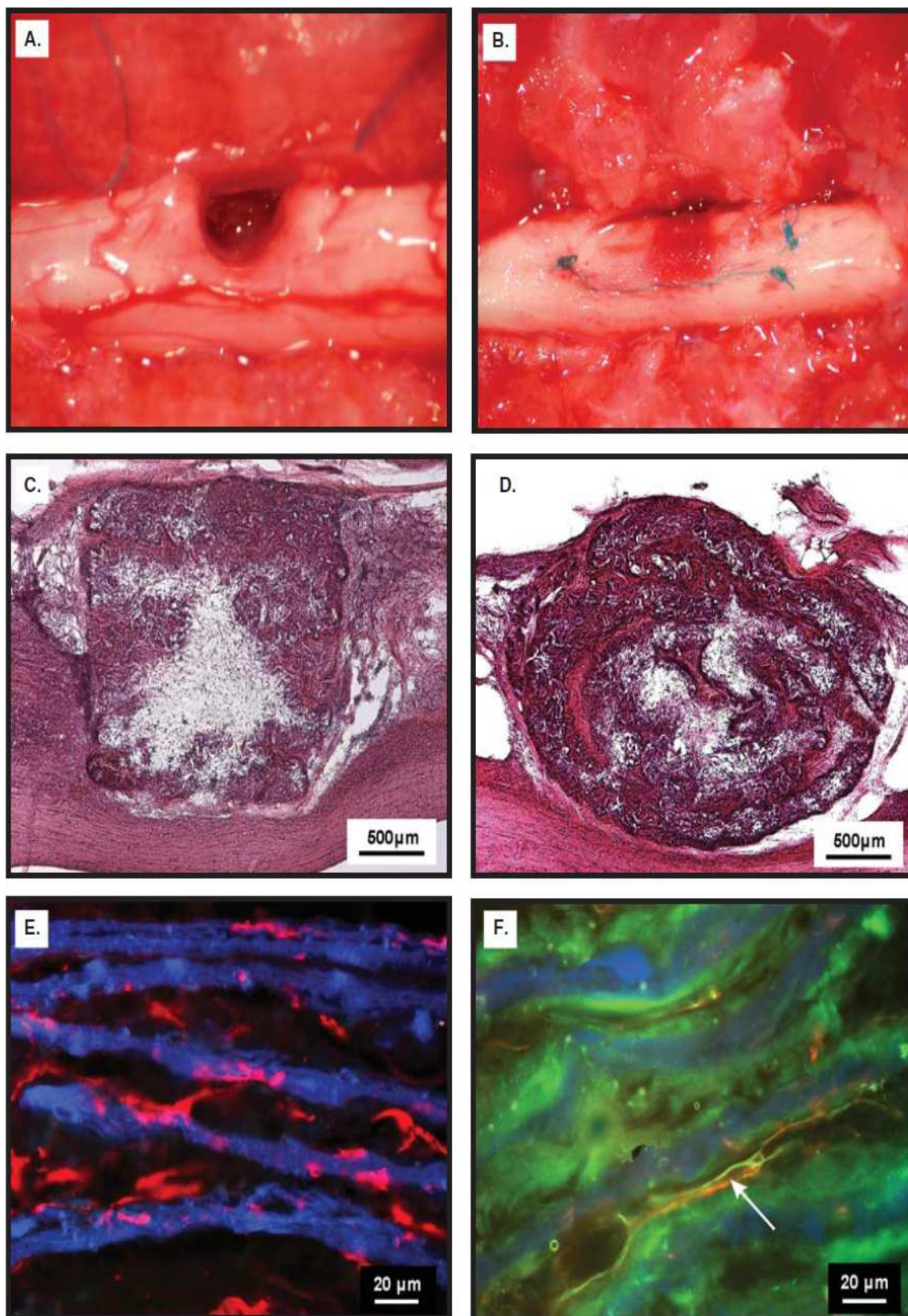
byly výsledky pro scaffold s uspořádanými vlákny mnohem lepší. V tomto případě hrála stěžejní roli uspořádaná struktura scaffoldu.

K přemostění poraněné tkáně byl použit i postup srolování scaffoldu z uspořádaných vláken, čímž došlo k vytvoření dutých trubic s uspořádanými vlákny orientovanými buď podélně, nebo po obvodu. Po 3 měsících byly na scaffoldech vypěstovány nervové buňky ve větším množství než tomu bylo na polymerních trubicích bez vláken. Na rozdíl od předcházející studie hrála v tomto případě stěžejní roli větší plocha vhodná pro pěstování buněk.

Pro podrobnější prozkoumání a popis chování buněk při regeneraci nervové tkáně je potřeba dalších in vivo studií [15].

Jedním z posledních experimentů bylo přemostění poškozené krysí nervové tkáně vrstveným scaffoldem z elektrostaticky zvlákněných nanovláken. Scaffold byl spojený s okolní tkání. Po určité době došlo k prorostení scaffoldu cévami a nervovými buňkami, které vedlo k oživení funkcí poškozené tkáně viz Obrázek 57 [2].

Z výše uvedeného tedy vyplývá, že nejvhodnějším materiálem pro regeneraci nervové tkáně je scaffold z uspořádaných nanovláken. Vzhledem k orientované struktuře můžeme z hlediska směru růstu nervových buněk uvažovat scaffold jednovrstvý oproti vícevrstvému scaffoldu v případě použití materiálu z náhodně orientovaných nanovláken.



Obrázek 57 (A) Zobrazení modelového poškození nervové tkáně pro implantaci nanovlákněných scaffoldů. (B) Srolovaný nanovlákněný scaffold byl implantován do poraněné tkáně. (C, D) Fotomikrografické snímky zobrazující vrůstání tkáně do implantovaného nanovlákněného scaffoldu. (E, F) vrůstání jednotlivých částí nervových buněk do scaffoldu. Nanovlákněný scaffold je zvýrazněn modrou barvou [2].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

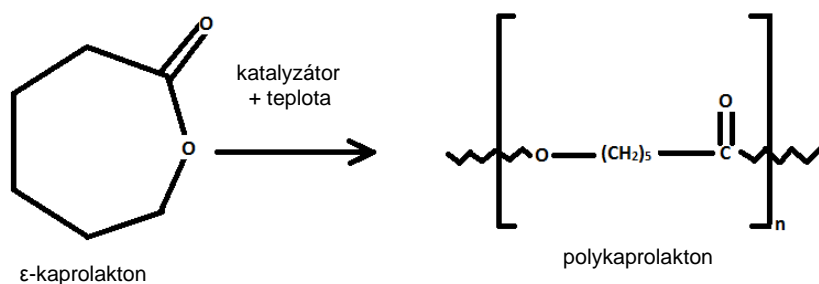
Následující část je věnována přímo experimentům týkajících se výroby biokompatibilních elektrostaticky zvlákněných nanovláken, které obsahují uhlíkové nanotrubičky, a to v takovém množství, které umožní růst neuronů. Experiment 1 se věnuje výrobě nanovláken metodou zvláknování z tyčky, Experiment 2 a Experiment 3 je zaměřen na výrobu nanovláken z jehly za různých podmínek a v různých koncentracích. K vyhodnocení vyrobených nanovláken bylo použito sestavení směrové růžice, zobrazení na elektronovém mikroskopu a Ramanovy spektroskopie.

3.1 Použité materiály

Pro výrobu scaffoldu byl vybrán polykaprolakton, který je jak biodegradabilní, tak i biokompatibilní, čímž splňuje podmínky budoucí implantace do živého organismu. Jako vhodné organické rozpouštědlo byl zvolen chloroform a ethanol, a to v poměru 9:1. Pro splnění podmínky vodivosti scaffoldu byly při zvláknování použity uhlíkové nanotrubičky jednostěnné, mnohostěnné a mnohostěnné s povrchovou úpravou – NH₂ a – COOH.

3.1.1 Polykaprolakton (PCL)

Polykaprolakton je plně biologicky degradovatelný semikrystalický polyester s nízkou teplotou tání ($T_m = 58\sim 60^\circ\text{C}$) a nízkou teplotou zesklenní ($T_g = -72^\circ\text{C}$). Tento syntetický alifatický (uhlovodík s necyklickým řetězcem, [63]) polyester je hydrofobní. Připravuje se katalytickou polymerací (řetězová polyreakce, vzniklý polymer je složen z jednotek o stejné hmotnosti jako monomer, žádný další produkt kromě makromolekuly nevzniká [64]) s otevřením kruhu (ROP, ring-opening polymerization) ϵ -kaprolaktonu (ϵ -CL), kde je katalyzátor spouštěčem reakce (Obrázek 58) [65, 66].



Obrázek 58 Otevření cyklu a polymerizace kaprolaktonu [67].

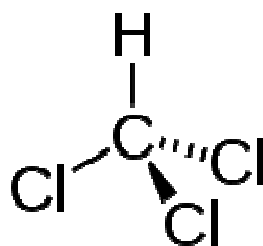
Jeho krystalinita se může snižovat se zvyšující se molekulovou hmotností. PCL je rozpustný v chloroformu, dichlormethanu, chloridu uhličitým, benzenu, toluenu, cyklohexanonu a 2-nitropropanu při pokojové teplotě. Vlastnosti PCL (odolnost vůči poškození při napětí, barvitelnost, adheze) mohou být zlepšeny jeho smícháním s dalším polymery [68]. PCL je využíván zejména v termoplastických polyuretanech, jako polymer vhodný pro povrchové úpravy, syntetické usně a adheziva. Dále slouží pro výrobu chirurgických nití, vláken a kompostovatelných obalů [69]. Díky minimálním zánětlivým či imunologickým odezvám lidského organismu je vhodným materiálem pro přípravu biokompatibilních scaffoldů využívaných v implantační technice a při výrobě nosičů léčiv [70]. Pro experimenty byl použit PCL s $M_n = 45\,000$ g/mol od firmy Aldrich.

3.1.2 Rozpouštědla

Jelikož je PCL hydrofobní, byla pro jeho rozpuštění použita organická rozpouštědla – chloroform a ethanol. Výběr rozpouštědel byl zvolen také na základě výsledků z jiné diplomové práce věnující se elektrostatickému zvlákňování polykaprolaktonu pro aplikaci v tkáňovém inženýrství [71].

3.1.2.1 Chloroform (trichlormethan, CHCl_3)

Jde o bezbarvou, těkavou, nehořlavou kapalinu nasládlého zápachu (schéma viz Obrázek 59). Chloroform patří mezi halogenderiváty (sloučeniny, kde je jeden nebo více atomů vodíku nahrazen atomem nebo atomy halogenů (F, Cl, Br, I), [72]). Teplota varu činí 61°C a teplota tání -63°C . Jelikož je jeho hustota $1483\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, je těžší než voda, která má $998\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Je částečně rozpustný ve vodě a dobře mísitelný s organickými rozpouštědly. Je řazen mezi těkavé látky, jeho struktura je na obrázku 57. Jelikož jsou páry chloroformu těžší než vzduch, hromadí se chloroform v uzavřených prostorech u podlahy a obtížně se vyvětrává [73, 74].



Obrázek 59 Molekula chloroformu s prostorovým uspořádáním atomů [73].

Chloroform je zdraví škodlivý. Přípravuje se reakcí acetonu s chlornanem sodným na trichloraceton, který se dále rozkládá hydroxidem sodným na trichlormethan a octan sodný [75]:

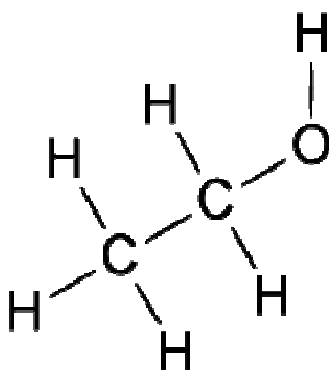


Chloroform je nehořlavým rozpouštědlem tuků, pryskyřic a olejů. Používá se k četným organickým syntézám [72]. Chloroform se v minulosti používal jako inhalační anestetikum v medicíně, což bylo ale po prokázání jeho toxických vlivů zakázáno. Nejvýznamnější je využití trichlormethanu jako rozpouštědla, při výrobě barviv, ve fotochemii, ve farmaceutickém průmyslu, při výrobě pesticidů nebo při výrobě parfémů. Mimo jiné se používá i při výrobě chladiv, plastů a dalších chemických sloučenin [73].

3.1.2.2 Ethanol (ethylalkohol)

Ethanol (schéma viz Obrázek 60) je druhý nejnižší alkohol. Je to bezbarvá kapalina ostré alkoholické vůně, která je základní součástí akoholických nápojů. Je snadno zápalný, proto je klasifikován jako hořlavina 1. třídy [76].

Teplota tání je -115°C a teplota varu je $78,3^\circ\text{C}$ [77].



Obrázek 60 Molekula ethanolu [78].

Většinou se připravuje z jednoduchých sacharidů (cukrů) alkoholovým kvašením. K tomuto procesu se používá jak cukerného roztoku o maximální koncentraci 20%, tak i přírodních surovin obsahujících sacharidy (například brambory, cukrová třtina). V kvasném procesu se z glukózy ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) uvolňuje oxid uhličitý (CO_2) a ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$): $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 2 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2 \text{CO}_2$.

Kvalita takto získaného ethanolu je závislá na výchozí surovině. Vzniklý vodný roztok ethanolu je nutné vyčistit destilací v destilačních kolonách. Synteticky se ethanol připravuje katalytickou hydratací ethenu ($\text{C}_2\text{H}_4 + \text{H}_2\text{O}$): $\text{CH}_2=\text{CH}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.

Jako katalyzátor se používá kyselina trihydrogenfosforečná (H_3PO_4) na oxidu křemičitém (SiO_2). Takto připravený ethanol má méně nečistot než kvasný ethanol a je tedy kvalitnější. Další způsob syntetické přípravy spočívá v katalytické hydrogenaci acetaldehydu (CH_3CHO), který může být průmyslově vyráběn hydratací acetylenu (C_2H_2): $\text{HC}\equiv\text{CH} + \text{H}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO}$,
 $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$.

Vazby C-O a O-H jsou polární, proto je i molekula ethanolu polární, rozpouští se proto velice špatně v nepolárních rozpouštědlech, s polárními rozpouštědly (například vodou) se mísí většinou neomezeně. Ethanol je velice reaktivní. Nejznámějším použitím ethanolu je výroba alkoholických nápojů. Používá se také jako přísada pohonných hmot k zlepšení výkonu spalovacích motorů, v lékařství jako rozpouštědlo (například jódu), při přípravě některých kapalných léčivých prostředků pro vnější i vnitřní použití, k dezinfekci neporaněné kůže, v kosmetice při přípravě voňavek a při výrobě čisticích prostředků. V chemickém průmyslu se používá jako surovina k přípravě organických sloučenin (například ethenu (C_2H_4), kyseliny octové (CH_3COOH) ad.). Ethanol se používá i jako biopalivo, jeho nevýhodou je schopnost vázat vodu, což vede ke vzniku koroze (dá se odstranit použitím vhodných aditiv).

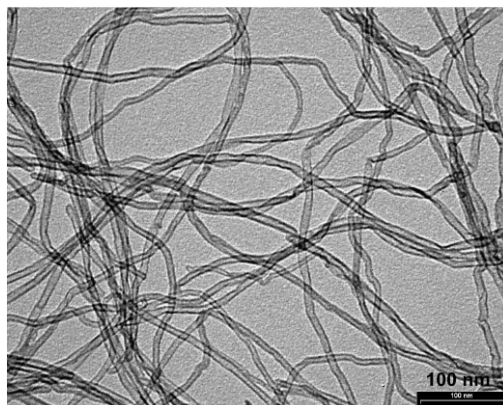
Na lidský organismus má ethanol ve zředěném množství omamné účinky, při větším množství může vést k otravě. Při dlouhodobém požívání vede ke změně osobnosti člověka a poškození orgánů.

Ethanol je snadno zaměnitelný s mnohem nebezpečnějším methanolem (vzhled i zápach je stejný). Otrava methanolem způsobuje oslepnutí [76].

3.1.3 Uhlíkové nanotrubice (CNTs)

Jak již bylo uvedeno výše, byly pro splnění podmínky vodivosti vybrány uhlíkové nanotrubice. Konkrétně se jednalo o následující druhy nanotrubic od firmy NANOCYL:

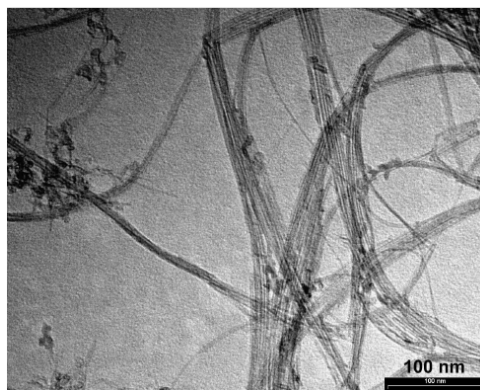
NANOCYL – 7000 (Obrázek 61): tyto mnohostěnné uhlíkové nanotrubice jsou zajímavé svou malou velikostí a vysokým poměrem stran (>150), umožňují vytvořit vodivou síť při velmi nízké koncentraci. Průměr se pohybuje kolem 9,5 nm, délka kolem 1,5 μm .



Obrázek 61 TEM snímek 7000. Měřítka 100 nm [79].

Vzhledem k nižší ceně jsou pro průmyslovou výrobu vhodnější. Nanocyl™ NC 7000 jsou vyráběny pomocí katalyzované chemické depozice par (CCVD). Čistota uhlíku se pohybuje kolem 90%, měrný povrch mezi 250-300 m²/g.

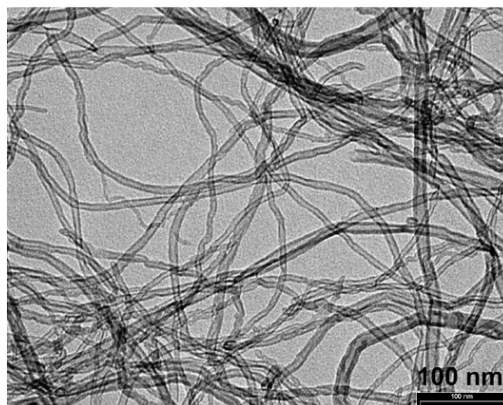
NANOCYL – 1100 (Obrázek 62): jednotěnné izolované a svazkové uhlíkové nanotrubice průměrem kolem 2 nm a délkou několika mikrometrů. Měrný povrch je větší než 1000 m²/g. Nanocyl™ 1100 jednotěnné uhlíkové nanotrubice jsou také vyráběny pomocí katalyzované chemické depozice par (CCVD).



Obrázek 62 TEM snímek 1100. Měřítka 100 nm [79].

Nanotrubice opouštějící reaktor jsou dodatečně čisté, obsah uhlíku je nakonec větší než 70%.

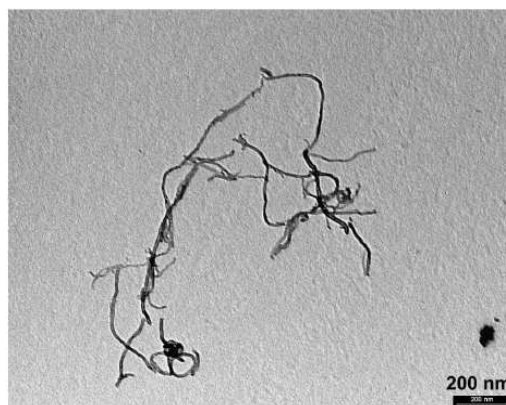
NANOCYL – 3100 (Obrázek 63): tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubice s průměrem kolem 9,5 nm a délkou 1,5 μm. Nanocyl™ 3100 jsou opět vyráběny pomocí katalyzované chemické depozice par (CCVD). Nanotrubice jsou následně dočišťovány, což vede ke většímu konečnému obsahu uhlíku (> 95%).



Obrázek 63 TEM snímek 3100. Měřítka 100 nm [79].

Po vystavení působení COOH je jejich označení 3101.

NANOCYL – 3150 (Obrázek 64): krátké tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky. Nanocyl™ 3150 jsou vyráběné také pomocí katalyzované chemické depozice par (CCVD). Nanotrubičky jsou ještě dodatečně čištěné, jejich konečný obsah uhlíku je větší než 95%. Průměr nanotrubic se pohybuje kolem 9,5 nm, délka pod 1 μm.



Obrázek 64 TEM snímek 3150. Měřítka 200 nm [79].

Krátké tenké mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky o 95 +% uhlíkové čistotě a povrchové modifikaci COOH se označují 3151 (vzhledem k úpravě jsou vhodnější pro vodné roztoky) a při povrchové modifikaci NH₂ 3152 (vzhledem k povrchové úpravě jsou vhodnější pro roztoky amidů) [79].

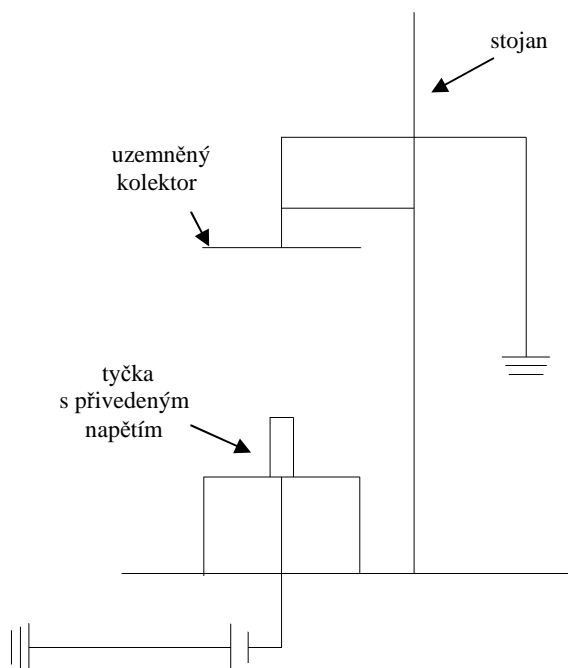
3.2 Použité metody

Pro zvláknování směsi polykaprolaktonu rozpuštěného v chloroformu a ethanolu s přidavkem uhlíkových nanotrubic byly zvoleny následující metody

zvlákňování: zvlákňování z tyčky (tedy z volného povrchu), a následně z injekční stříkačky (tedy za pomoci tlaku).

3.2.1 Zvlákňování z tyčky (z volné hladiny)

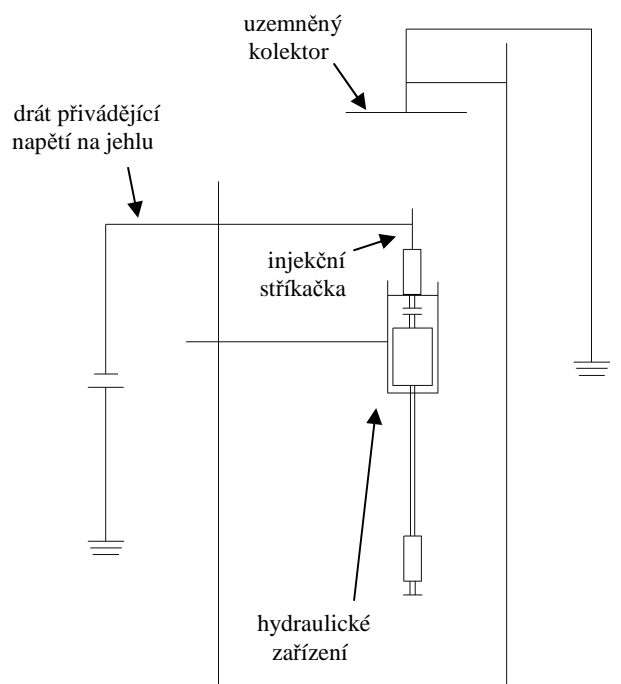
Soustava pro zvlákňování z volného povrchu – tyčky – byla pro účely experimentu složena z jednoho stojanu, uzemněného kolektoru s magnety, kovové tyčky válcového tvaru upevněné v držáku a černého podkladového papíru (Obrázek 65). Na stojan se do držáku upevnil uzemněný kolektor, magnety na něm zespoda drželi černý podkladový papír, na který dopadala hotová vlákna. Tyčka kolmo zasazená v držáku byla ve vzdálenosti 100 mm postavena pod kolektor, na její spodní konec byl přiveden proud postupně se zvyšujícím napětím ze záporného zdroje. Na horní konec tyčky byl skleněnou tyčinkou opatrně nanášen zvlákňovaný roztok. Zvlákňování probíhalo v kabině oddělené posuvnou clonou a s nainstalovanou digestoří. Ovládání přívodu napětí bylo umístěno vně kabiny, po každém ukončení zvlákňovacího procesu bylo nutné odvést proud z tyčky i z kolektoru uzemňovacím drátem. Vydloužená nanovlákná byla náhodně uspořádaná. Tato soustava byla použita pro první experiment a pro zvlákňování malé vrstvy nanovláken ze vzorku se sníženou viskozitou v experimentu 3. Tato vrstva byla vyhodnocena pomocí směrové růžice a sloužila pouze k porovnání uspořádanosti nanovláken.



Obrázek 65 Zvlákňování z tyčky – schéma soustavy. V držáku na stojanu je upevněn uzemněný kolektor s magnety, které drží černý podkladový papír. Na papír dopadají vydloužená vlákna. Tyčka je ve vzdálenosti 100 mm pod kolektorem kolmo usazená v držáku. Na její spodní konec je přiváděn proud postupně se zvyšujícím napětím ze záporného zdroje. Na horní konec tyčky je skleněnou tyčinkou opatrně nanášen zvlákňovaný roztok.

3.2.2 Zvlákňování z injekční stříkačky (za pomoci tlaku)

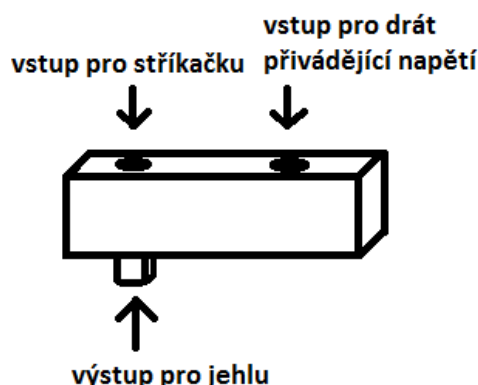
Soustava pro zvlákňování za pomoci tlaku - injekční stříkačky – byla pro potřeby této diplomové práce sestavena ze dvou stojanů, uzemněného kolektoru s magnety, injekční stříkačky s jehlou naplněnou polymerem s uhlíkovými nanotubicemi a upevněnou v držáku s hydraulickým zařízením, které umožňovalo přivádět na injekční stříkačku větší tlak, než jakým bychom působili na samotné zařízení (Obrázek 66). Jehla byla uchycena na prvním stojanu v očku z kovového drátu, na který byl přiváděn proud postupně se zvyšujícím napětím ze záporného zdroje. Vrchol jehly byl umístěn ve vzdálenosti 100 mm pod kolektorem s magnety zespodu upevněným černým podkladovým papírem, na který dopadala hotová vlákna. Uzemněný kolektor byl upevněný v držáku na druhém stojanu. Zvlákňování probíhalo v kabině oddělené posuvnou clonou a s nainstalovanou digestoří. Ovládání přívodu napětí bylo umístěno vně kabiny, po každém ukončení zvlákňovacího procesu bylo nutné odvést proud z jehly i z kolektoru uzemňovacím drátem. Vydloužená nanovlákna byla náhodně uspořádaná. Tato soustava byla použita pro druhý experiment.



Obrázek 66 Zvlákňování z injekční stříkačky – schéma soustavy. Stříkačka s jehlou naplněná polymerem s uhlíkovými nanotubicemi je upevněná v držáku s hydraulickým zařízením, které umožňuje přivádět na injekční stříkačku větší tlak, než jakým bychom na samotné zařízení mohli působit. Jehla je uchycena na prvním stojanu v očku z kovového drátu, na který je přiváděn proud postupně se zvyšujícím napětím ze záporného zdroje. Vrchol jehly je umístěn ve vzdálenosti 100 mm od kolektoru s magnety zespodu upevněným černým podkladovým papírem, na který dopadají hotová vlákna. Uzemněný kolektor je upevněný v držáku na druhém stojanu.

3.2.3 Zvlákňování z injekční stříkačky (za pomoci tlaku) pro výrobu orientovaných nanovláken

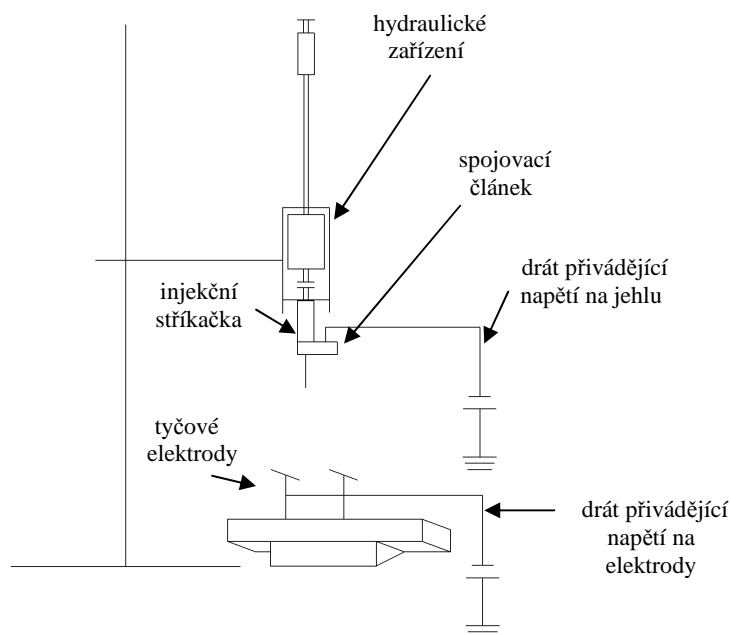
Soustava pro zvlákňování za pomoci tlaku - injekční stříkačky – pro výrobu orientovaných nanovláken byla do jisté míry stejná jako soustava pro výrobu náhodně uspořádaných nanovláken při zvlákňování z injekční stříkačky (Obrázek 68). Pro potřeby této diplomové práce byla sestavena podle sestavy z diplomové práce pro výrobu uspořádaně orientovaných nanovláken [13]. Soustava se skládala z jednoho stojanu s držákem s hydraulickým zařízením a injekční stříkačkou naplněnou polymerem s uhlíkovými nanotrubicemi. Mezi stříkačkou a jehlou byl umístěn spojovací článek z vodivého kovu, který byl sestrojen tak, aby umožnil lepší přivedení napětí na jehlu (jednalo se o článek tvaru kvádra s dvěma vstupy na jedné straně a jedním výstupem na straně druhé. Do jednoho vstupního otvoru se umístila injekční stříkačka, do druhého drát přivádějící napětí. Na výstupu byla umístěna jehla. Vše viz obrázek 67).



Obrázek 67 Náčrtek spojovacího článku z vodivého kovu, který byl sestrojen tak, aby umožnil lepší přivedení napětí na jehlu. Článek má tvar kvádra s dvěma vstupy na jedné straně a jedním výstupem na straně druhé. Do jednoho vstupního otvoru se umístí injekční stříkačka, do druhého drát přivádějící napětí. Na výstupu je umístěna jehla.

Kolektor se skládal ze dvou tyčových elektrod, na které bylo také přiváděno napětí a které byly mezi sebou spojeny drátem z vodivého kovu. Elektrody byly umístěny do polystyrenové podložky, která byla zespodu podložena ještě jedním zkoseným kouskem polystyrenu. Skloněné elektrody byly pro ukládání orientovaných vydloužených nanovláken vhodnější než elektrody umístěné kolmo pod jehlou. Vzdálenost elektrod a spodního konce jehly byla opět 100 mm. Zvlákňování probíhalo

v kabině oddělené posuvnou clonou a s nainstalovanou digestoří. Ovládání přívodu napětí bylo umístěno vně kabiny a to jak pro elektrody, na které bylo přiváděno napětí z kladného zdroje, tak i pro jehlu, na kterou bylo přiváděno napětí ze záporného zdroje. Po každém ukončení zvlákňovacího procesu bylo nutné odvést proud z jehly i z elektrod uzemňovacím drátem. Vydloužená vlákna byla orientovaná. Tato soustava byla použita pro třetí experiment.



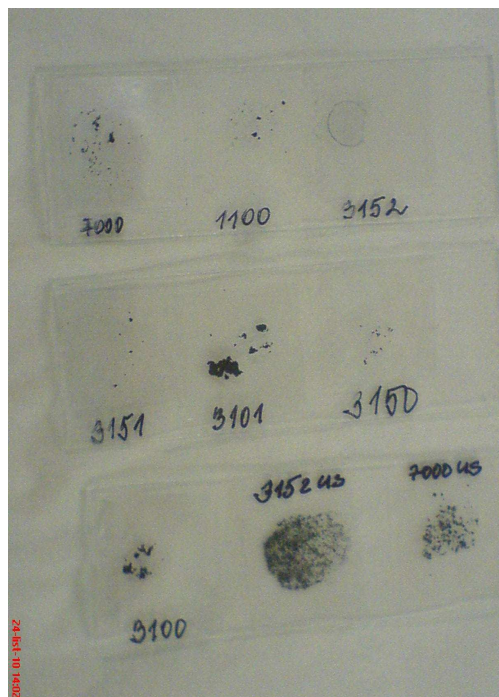
Obrázek 68 Zvlákňování z injekční stříkačky – schéma pro výrobu orientovaných nanovláken. Hydraulické zařízení s injekční stříkačkou naplněnou polymerem s uhlíkovými nanotubicemi je umístěno na stojanu s držákem. Mezi stříkačkou a jehlou je umístěn spojovací článek z vodivého kovu, který je sestaven tak, aby umožnil lepší přivedení napětí ze záporného zdroje na jehlu. Kolektor se skládá ze dvou tyčových elektrod, na které je také přiváděno napětí z kladného zdroje a které jsou mezi sebou spojeny drátem z vodivého kovu. Elektrody jsou umístěny do polystyrenové podložky, která je zespodu podložena dalším zkosným kouskem polystyrenu. Skloněné elektrody jsou pro ukládání orientovaných vydloužených nanovláken vhodnější. Vzdálenost elektrod a spodního konce jehly je opět 100 mm.

3.3 Experimenty

Následující část je věnována samotným experimentům, které vedly k výrobě orientovaných nanovláken s uhlíkovými nanotubicemi. Experimenty jsou seřazeny chronologicky od prvního, ve kterém se nejdříve zkoušela rozpustnost uhlíkových nanotubic ve směsi chloroformu a ethanolu s následným zvlákňováním směsi polykaprolaktonu s uhlíkovými nanotubicemi z volné hladiny. Ve druhém experimentu probíhalo zvlákňování uvedené směsi za pomoci tlaku (z injekční stříkačky), ve třetím experimentu byla dloužená nanovlákna ukládána orientovaně na pár elektrod.

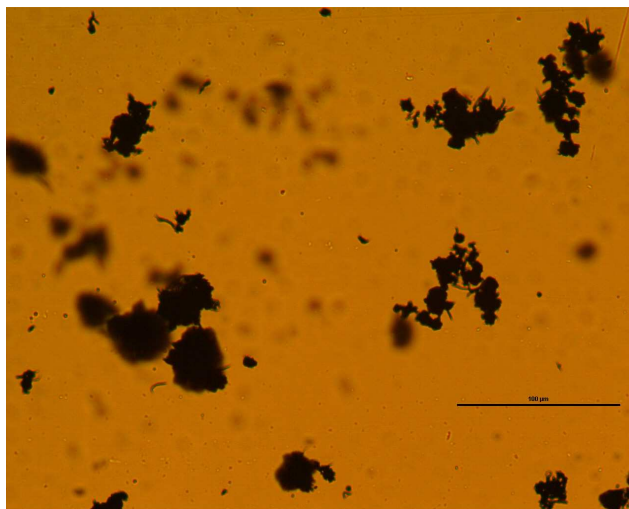
3.3.1 Experiment 1

Pro první experiment bylo nejdříve připraveno sedm vzorků uhlíkových nanotubic typu SWCNTs (1100), MWCNTs (7000), krátkých a tenkých MWCNTs (3150), krátkých a tenkých MWCNTs s povrchovou úpravou COOH (3151), krátkých a tenkých MWCNTs s povrchovou úpravou NH₂ (3152), tenkých MWCNTs (3100) a tenkých MWCNTs s povrchovou úpravou COOH (3101) rozmíchaných ve směsi PCL s chloroformem a ethanolem. Podrobný postup byl následující: nejprve byla připravena směs chloroformu a ethanolu v poměru 9:1 o celkové hmotnosti 10g. Na Petriho misku bylo odlito trochu směsi rozpouštědel, k tomu bylo lžičkou přisypáno menší množství nanotubic (pro každý typ nanotubic zvlášť). Nanotubice se v rozpouštědle rozmíchaly skleněnou tyčinkou a s její pomocí se od každého vzorku nanasla kapka směsi na podkladové sklíčko, na vzorky na sklíčko bylo položeno sklíčko krycí (viz Obrázek 69). Všech sedm vzorků bylo pozorováno ve skenovacím elektronovém mikroskopu (SEM). Na základě pozorované rozpustnosti uhlíkových nanotubic ve směsi rozpouštědel bylo vybráno šest druhů vzorků (směsi s uhlíkovými nanotubicemi typu SWCNTs 1100, MWCNTs 3100, MWCNTs 3101, MWCNTs 3150, MWCNTs 3151 a MWCNTs 3152). Nejlepší výsledky byly dosaženy pro vzorky uhlíkových nanotubic 3152. Tento typ nanotubic byl ještě jednou rozmíchán ve směsi chloroformu a ethanolu, tentokrát sonotrodou v poměru 1 hmotnostního procenta (0,3 g) uhlíkových nanotubic na 30 g směsi rozpouštědel (opět v poměru 9:1, tedy 27 g chloroformu a 3 g ethanolu). Jednalo se o sonotrodu s frekvencí 30 kHz a výkonem 60 W, ultrazvukové zařízení bylo od firmy Calemard & Cie. Jelikož jsou uhlíkové nanotubice typu MWCNTs 7000 mnohem levnější než ostatní typy (a pro průmyslové aplikace tedy dostupnější), byl ten samý postup rozmíchání uhlíkových nanotubic ve směsi rozpouštědel pomocí sonotrody použit i pro tyto uhlíkové nanotubice. V obou případech vedlo rozmíchání sonotrodou ke vzniku kašovitě hmoty. Z obou vzorků bylo následně opět nanaseno menší množství směsi na podkladové sklíčko (viz Obrázek 69).

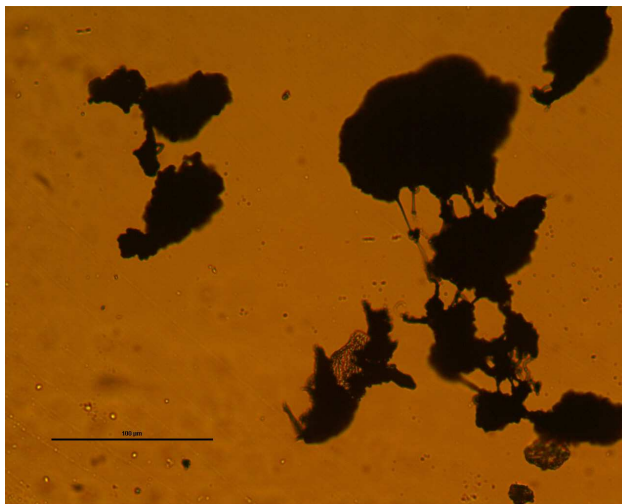


Obrázek 69 Vzorky použitých uhlíkových nanotrubic (MWCNTs 7000, MWCNTs 3100, MWCNTs 3101, MWCNTs 3150, MWCNTs 3151, MWCNTs 3152 a SWCNTs 1100) ve směsi chloroformu s ethanolom (v poměru 9:1) a vzorky uhlíkových nanotrubic MWCNTs 7000 a MWCNTs 3152 rozmíchaných sonotrodou ve směsi rozpouštědel (označeny 3152US a 7000US).

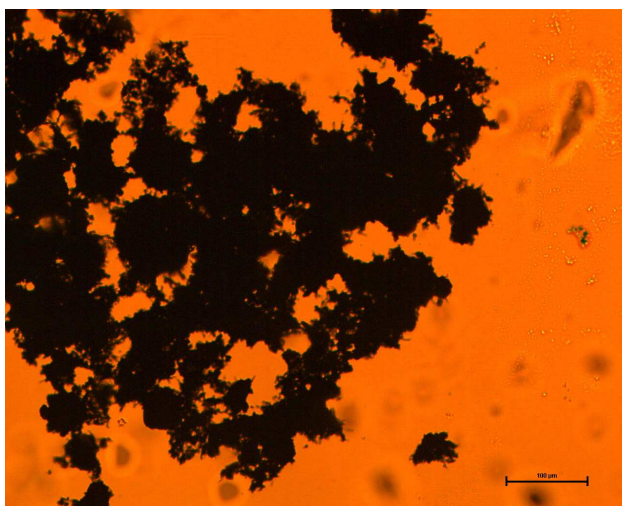
Vzorové snímky rozmíchaných uhlíkových nanotrubic jsou uvedeny na Obrázcích 70 až 73. Ostatní snímky jsou uvedeny v Příloze 1.



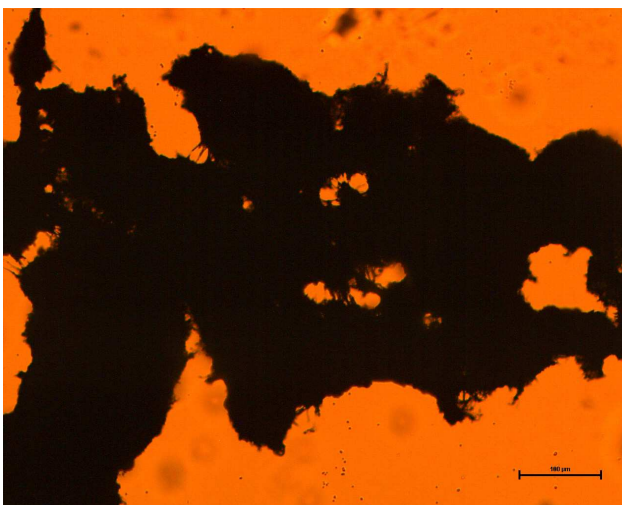
Obrázek 70 SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3152 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.



Obrázek 71 SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 7000 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.



Obrázek 72 SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3152 rozmíchaných pomocí sonotrody ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.

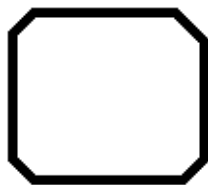


Obrázek 73 SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 7000 rozmíchaných pomocí sonotrody ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.

Z výše uvedeného jasně vyplývá, že uhlíkové nanotrubic tvořily při rozmíchání skleněnou tyčinkou shluky (vyjma typ MWCNTs 3152). Při použití sonotrody došlo k mnohem lepšímu rozmíchání uhlíkových nanotubic (viz obrázek 69, vzorky 3152US a 7000US).

Následně bylo do směsí s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs 3152 a MWCNTs 7000 míchanými sonotrodou přidáno 10 hmotnostních procent PCL (3 g). Pro porovnání byl připraven i slepý vzorek (pouze směs chloroformu a ethanolu s 10 hmotnostními procenty PCL) a to opět v množství 30 g směsi rozpouštědel v poměru 9:1. Všechny tři směsi byly přendány spolu s magnetickými míchadly do plastových lahviček s uzávěrem a vloženy na míchadlo s frekvencí 250 otáček za minutu. Ten samý postup byl následně aplikován na směsi s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs 7000 a to pro 0,5 hmotnostních procent a 1,5 hmotnostních procent. Směsi byly opět umístěny v uzavíratelných plastových lahvičkách na magnetická míchadla s frekvencí 250 otáček za minutu. Směsi byly na míchadlech ponechány 2 dny.

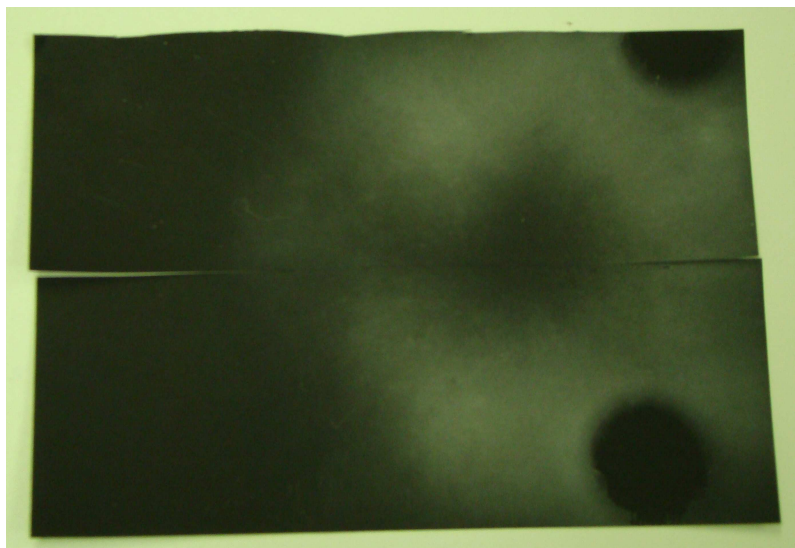
První experiment probíhal na sestavě pro zvlákňování z tyčky. Parametry sestavy byly následující: tyčka měla průměr 10 mm, vzdálenost kolektoru od vrchního konce tyčky byla 100 mm, kolektor měl tvar čtverce se skosenými rohy o velikosti 265 mm x 265 mm (viz obrázek 74).



Obrázek 74 Tvar kolektoru pro zvlákňování z tyčky

Experiment probíhal v laboratoři, v osvětleném výklenku s digestoří (která sloužila k odtahu nepříjemných výparů) a stahovacími prosklenými dvířky (která chránila před nečistotami způsobenými elektrostatickým zvlákňováním). Soustava byla sestavena podle Obrázku 65. Skleněnou tyčinkou bylo nanášeno menší množství rozmíchané směsi PCL s uhlíkovými nanotubicemi na tyčku, pustila se digestoř a stáhla se prosklená dvířka. Následně došlo k zapnutí uzemněného zdroje a vysokého napětí ze záporného zdroje, které se postupně navyšovalo až na hodnotu, při které započalo elektrostatické zvlákňování. Po ukončení zvlákňovacího procesu došlo k vypnutí vysokého napětí i zdroje. Uzemněným drátem bylo nutné po každém procesu

zvlákňování vybit jak tyčinku, tak i kolektor (aby nedošlo při manipulaci se zařízením k zasažení vysokým napětím). Jelikož byly roztoky použité pro rozmíchání PCL a uhlíkových nanotubic značně prchavé, zůstali na tyčince po každém zvlákňování zbytky ztuhlé směsi PCL s nanotubicemi, které bylo nutné po vybití tyčinky setřít papírovým ubrouskem. Jako podkladový materiál byl na kolektoru použitý černý papír (vláknenná vrstva byla bílá, jelikož byla nanovláknena tak malá, že odrážela celé spektrum viditelného záření). Jako první byl zvlákňován slepý vzorek. Před prvním zvlákňováním byla naměřená vlhkost vzduchu 35%, teplota v prostoru s digestoří byla 20,9°C, dosažené hodnoty vedoucí ke zvlákňování byly pro přiváděné napětí 23 kV a pro proud 13 mA. Zvlákňování probíhalo bez jakýchkoliv komplikací, výsledkem bylo menší množství nanovláken náhodně uspořádaných na podkladovém papíře, viz obrázek 75.



Obrázek 75 Výsledek zvlákňování slepého vzorku z tyčky. Na vzorku je jasné vidět umístění magnetů potřebných k uchycení podkladového materiálu na kolektor.

Druhou zvlákňovanou směsí byl PCL s 0,5 hmotnostními procenty MWCNTs 7000. Před zvlákňováním bylo naměřeno 22,2°C a 35% vlhkost vzduchu. Zvlákňování se nedostavilo ani po navýšení přiváděného napětí na 56 kV. Následně byl použit uzemňovací drát, který může svým vložením do elektrického pole během přivádění napětí proces zvlákňování „nastartovat“, což se v tomto případě nestalo ani při 58 kV. Během pokusu došlo vlivem použitého vysokého napětí k proděravění podkladového materiálu.

Třetí směsí byl PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. V tomto případě nedošlo při hodnotách uvedených pro druhý pokus (včetně použití uzemněného drátu jako startovacího média) ani ke změně tvaru kapky na tyčce. Ten samý postup byl aplikován i na čtvrté zvlákňování (směs PCL s 1,5 hmotnostními procenty MWCNTs 7000) opět se stejným výsledkem. V tomto případě bylo přiváděné napětí navýšeno až na 59 kV, kdy došlo ke koróně (trsovité výboje, který vzniká v blízkosti hrotů a hran vodičů s vysokým napětím vůči okolí [80]). Poslední směsí byl PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 3152. I v tomto případě nedošlo ke zvlákňování, i když bylo přiváděné napětí navýšeno až na 60 kV, došlo pouze k proděravění podkladového materiálu vlivem výbojů.

Závěr k prvnímu experimentu byl učiněn v tom smyslu, že se jednalo o příliš viskózní směsi, které nelze zvláknit z volné hladiny (až na slepý vzorek). Pro další zvlákňování bylo nutné připravit méně viskózní vzorky a použít jiný postup pro výrobu nanovláken.

3.3.2 Experiment 2

Na druhý experiment byly použity ty samé směsi PCL s uhlíkovými nanotubicemi jako pro experiment 1, tentokrát již nebyl zvlákňován slepý vzorek (jeho zvlákňovací schopnost byla potvrzena v experimentu 1). Jednalo se tedy o směsi PCL s 0,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000, PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000, PCL s 1,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000 a PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 3152. Experiment probíhal v laboratoři na soustavě pro zvlákňování z injekční stříkačky (viz obrázek 66), která byla sestavena v osvětleném výklenku s digestoří a stahovacími prosklenými dvířky. Na kolektor byl umístěn podkladový materiál (černý papír), který byl opět upevněn magnety. Injekční stříkačka měla průměr 5 mm, jehla měla průměr 0,9 mm vně a 0,6 mm uvnitř (tloušťka stěny jehly byla 0,15 mm). Hrot jehly byl obroušený kotoučem, který se pohyboval rychlostí 3 000 otáček za minutu, vnitřek jehly byl ještě následně očištěný drátkem, aby se nečistotami nezúžil průměr jehly. Obroušením do vodorovné roviny se předešlo akumulaci náboje na hrotu jehly. Vzdálenost hrotu od kolektoru byla 70 mm.

Před prvním měřením byla naměřena teplota vzduchu 21,1°C a vlhkost vzduchu 40%. Jako první byla zvlákňována směs PCL s 0,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. Při napětí 30 kV a proudu 0,05 mA dopadala směs ve velkých kapkách na

podkladový papír, čímž se vytvořil šedý flek. Stejný výsledek byl pozorován i pro směs PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000 při napětí 34,6 kV a proudu 0,06 mA. U směsi PCL s 1,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000 byl při napětí 37 kV a proudu 0,08 mA pozorován vznik dloužených, okem viditelných, vláken. Nejlépe šla zvláknit směs PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 3152, u které vznikl při napětí 35 kV a proudu 0,07 mA šedý flek.

Po prvním zvlákňování na soustavě pro zvlákňování z tyčky bylo zřejmé, že byla tato soustava pro záměry této diplomové práce vhodnější, než soustava pro zvlákňování z volné hladiny. Zároveň byla viskozita směsi příliš vysoká, pro další experimenty bylo nutné ji snížit přidáním menšího množství PCL.

Pro další zvlákňování z injekční stříkačky byly namíchány směsi s uhlíkovými nanotrubicemi MWCNTs 7000 a MWCNTs 3152. Navíc byla namíchána i směs pro slepý vzorek. Příprava probíhala následovně: směs rozpouštědel chloroformu a ethanolu byla připravena v poměru 9:1 na celkovou hmotnost 30 g a to celkem 5 krát. Do 4 směsí byly přidány uhlíkové nanotrubice v množství: 0,5, 1 a 1,5 hmotnostních procent MWCNTs 7000 a 1 hmotnostní procento MWCNTs 3152. Všechny 5 směsí bylo převáženo a rozděleno na polovinu. Celkem tak vzniklo 10 vzorků. Od každého typu vzorku byla připravena směs s 8 a s 6 hmotnostními procenty PCL. Všechny směsi byly nejprve rozmíchány skleněnou tyčinkou a následně sonotrodou. Při zvlákňování se nepodařilo zvláknit ani jeden vzorek, jelikož došlo při míchání sonotrodou k zesíťování PCL ve směsích. Příprava vzorků se proto musela opakovat, míchání sonotrodou bylo v tomto případě aplikováno před vmícháním PCL. Místo slepého vzorku se použila směs 6 a 8 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100.

Následné opakování zvlákňování z injekční stříkačky bylo úspěšnější. Před prvním zvlákňováním byla naměřena teplota vzduchu 18,1°C a vlhkost 40%. Vzdálenost hrotu jehly od kolektoru byla 100 mm. Nejdříve byla zvlákněna směs 6 hmotnostních procent PCL s 0,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. K vytvoření bílého kruhu nanovláken s kapkami směsi bylo potřeba napětí 30,2 kV a proud 0,02 mA (Obrázek 76).



Obrázek 76 SEM zobrazení nanovláken ze směsi 6 hmotnostních procent PCL s 0,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. Na obrázku jsou patrná jak nanovlákná, tak i kapky roztoku. Měřítka je 70 μm.

Druhou zvlákněvanou směsí bylo 8 hmotnostních procent PCL s 0,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. K dosažení zvlákněvaní bylo potřeba napětí 35 kV a proud 0,04 mA. Výsledkem byl malý kroužek nanovláken s velkými kapkami směsi (viz Obrázek 77).



Obrázek 77 SEM zobrazení zvlákněné směsi 8 hmotnostních procent PCL s 0,5 hmotnostními procenty MWCNTs 7000 uhlíkových nanotrubic na soustavě z injekční stříkačky. Na obrázku je patrné vytvoření kapky směsi a nanovláken, měřítka je 40 μm.

Pro třetí a čtvrté zvlákňování byly použity směsi postupně s 6 a následně s 8 hmotnostními procenty PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. U první směsi bylo potřeba k vytvoření bílého kruhu nanovláken s většími kapkami směsi napětí 38,3 kV a proud 0,05 mA. Výsledek byl lepší než u druhé směsi, která šla celkově velmi špatně zvláknit, výsledkem byly při napětí 41,3 kV a proudu 0,07 mA velké kapky směsi. Oba výsledky jsou patrné na následujících Obrázcích 78 a 79.



Obrázek 78 SEM zobrazení směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. Na obrázku jsou patrná uhlíková nanovlákná, měřítko je 30 μm.



Obrázek 79 SEM zobrazení 1 hmotnostního procenta MWCNTs 7000 s 8 hmotnostními procenty PCL. Z obrázku je patrné, že šla směs velmi špatně zvláknit, docházelo k vytvoření velkých kapek směsi. Měřítka je 40 μm.

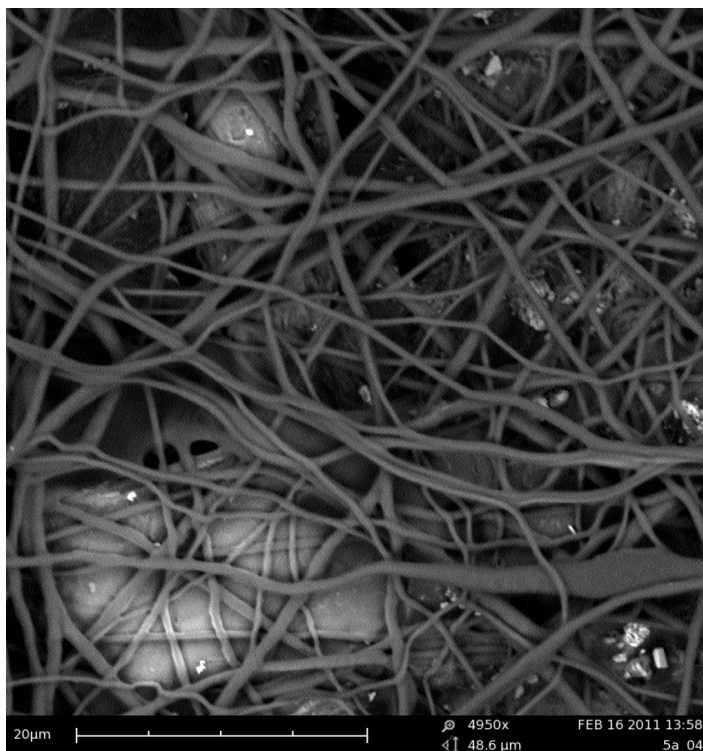
Následovalo zvláknění směsi 6 a následně s 8 hmotnostními procenty PCL s 1,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000. K zvláknění nedošlo ani při napětí 47,1 kV a proudu 0,09 mA pro první vzorek a 48,4 kV a 0,09 mA pro druhý vzorek. Směsi šly špatně nabrat i do injekční stříkačky, při zvláknění vytvářely na podkladovém materiálu pouze velké kapky.

Sedmým a osmým zvlákněným vzorkem bylo 6 a 8 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 3152. Vzorek s 6 hmotnostními procenty PCL šel sice dobře nabrat, ale již hůře zvláknit, při napětí 51,4 kV a proudu 0,10 mA se vytvořilo velmi světlé pole nanovláken s velkými kapkami směsi (Obrázek 80). U vzorku s 8 hmotnostními procenty PCL se nepodařilo ani při napětí 50,7 kV a proudu 0,12 mA zvláknit směs, polymer s nanotubicemi se hromadil na výstupu z jehly.

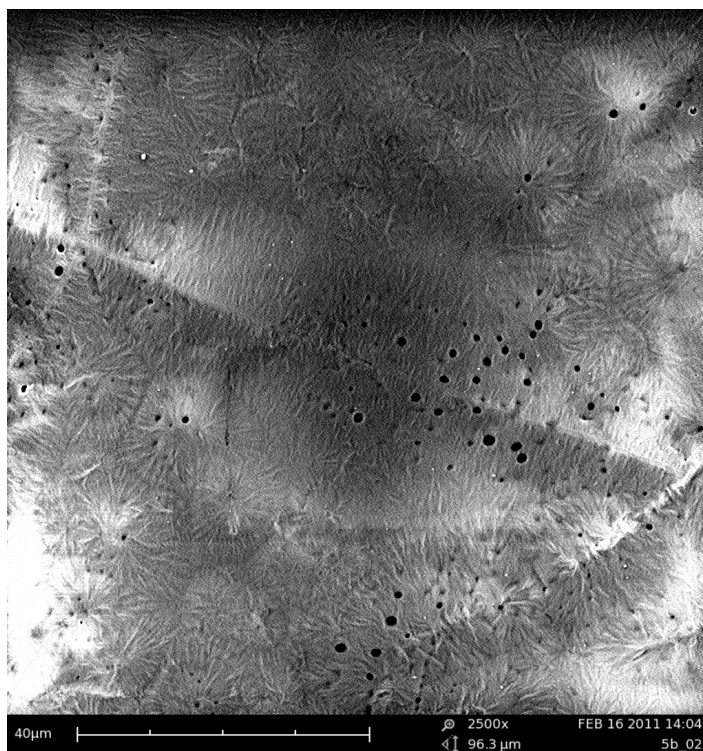


Obrázek 80 SEM zobrazení 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 3152. Na obrázku jsou patrná nanovlákná. Měřítka je 20 μm.

Poslední dva vzorky byly směsi 6 a 8 hmotnostních procent PCL 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100. Oba vzorky šly velmi dobře zvláknit. U prvního vzorku stačilo napětí 47,8 kV a proud 0,07 mA. Během zvláknování došlo (vlivem přístupu vzduchu do jehly) k ztuhnutí polymeru uvnitř jehly a jejímu následnému odmrštění (vzhledem k stále působícímu tlaku na injekční stříkačku). Výsledek je zachycen na Obrázku 81. U druhé směsi probíhalo zvláknování při napětí 48,5 kV a proudu 0,07 mA příliš rychle, dloužená směs se po dopadu na podkladový materiál opět spojila (Obrázek 82).



Obrázek 81 SEM zobrazení 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100. Na obrázku jsou jasně patrná uhlíková nanovlákná. Měřítka je 20 μm.



Obrázek 82 SEM zobrazení 8 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100. Při zvláknování byla směs příliš tekutá a po dopadu na podkladový materiál se opět spojila. Výsledkem je spojitá vrstva PCL (na obrázku je patrné charakteristické zvrásnění PCL po vyprchání rozpouštědel). Měřítka je 40 μm.

V případě použití uhlíkových nanotrubic MWCNTs 7000 a MWCNTs 3152 byly roztoky stále ještě příliš viskózní, i když se podařilo získat dílčí žádoucí výsledky. Roztoky s uhlíkovými nanotrubicemi SWCNTs 1100 se jevily jako málo viskózní. V těchto případech by bylo možné navýšit obsah PCL na 10 hmotnostních procent.

Pro lepší přehlednost jsou výše uvedené vzorky a jejich výsledky při zvlákňování uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2 Přehled zvlákňovaných směsí na soustavě pro zvlákňování z injekční stříkačky včetně dosažených výsledků. Z přehledu jsou jasné patrné nejlepší výsledky pro směs PCL s uhlíkovými nanotrubicemi SWCNTs 1100. Nejhorší výsledky byly dosaženy pro směs PCL s 1,5 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic MWCNTs 7000, kdy se směs nepodařilo vůbec zvláknit.

Typ CNTs	Obsah CNTs	Obsah PCL	Zvlákňování	Napětí	Proud
MWCNTs 7000	0,5 hm. %	6 hm. %	bílý kruh nanovláken s kapkami směsi	30,2 kV	0,02 mA
MWCNTs 7000	0.5 hm. %	8 hm. %	malý kruh nanovláken s velkými kapkami směsi	35 kV	0,04 mA
MWCNTs 7000	1 hm. %	6 hm. %	bílý kruh nanovláken s velkými kapkami směsi	38,3 kV	0,05 mA
MWCNTs 7000	1 hm. %	8 hm. %	směs nešla zvláknit, velké kapky směsi	41,3 kV	0,07 mA
MWCNTs 7000	1.5 hm. %	6 hm. %	směs nešla zvláknit, velké kapky směsi	47,1 kV	0,09 mA
MWCNTs 7000	1.5 hm. %	8 hm. %	směs nešla zvláknit, velké kapky směsi	48,4 kV	0,09 mA
MWCNTs 3152	1 hm. %	6 hm. %	světlé pole nanovláken s kapkami směsi	51,4 kV	0,10 mA
MWCNTs 3152	1 hm. %	8 hm. %	směs nešla zvláknit	50,7 kV	0,12 mA
SWCNTs 1100	1 hm. %	6 hm. %	šlo velmi dobře zvláknit	47,8 kV	0,07 mA
SWCNTs	1 hm. %	8 hm. %	zvlákňování probíhalo	48,5 kV	0,07 mA

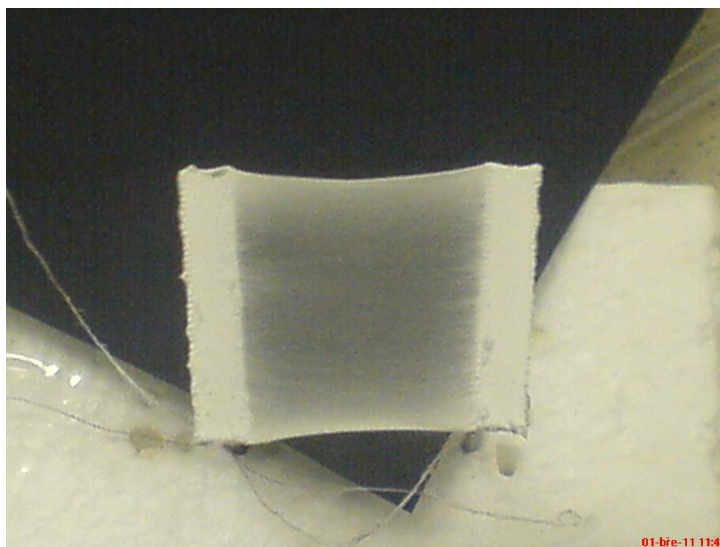
1100			příliš rychle, nanovlákn se po dopadu na podkladový materiál opět spojila		
------	--	--	---	--	--

3.3.3 Experiment 3

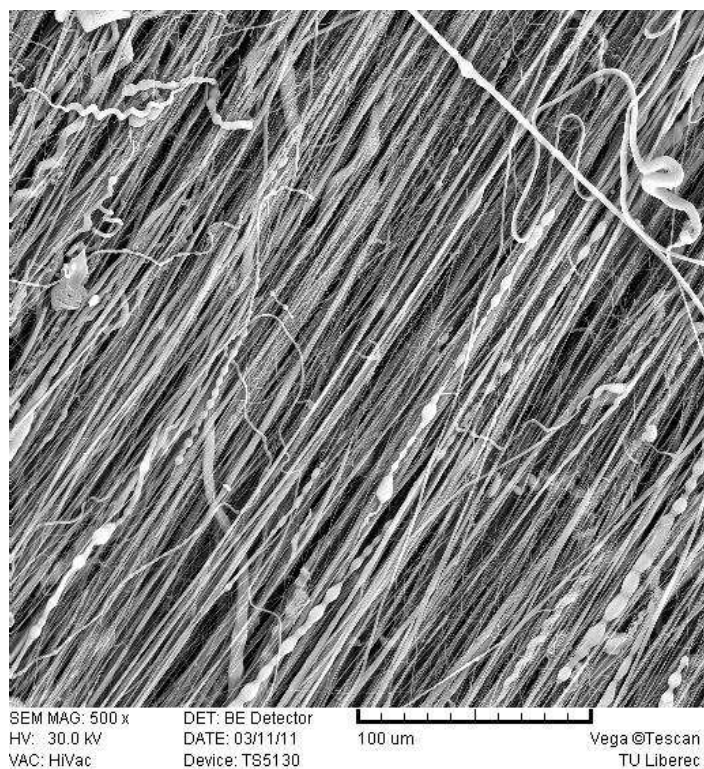
Pro třetí experiment byly vybrány tři směsi PCL s uhlíkovými nanotubicemi a slepý vzorek. Směsi PCL s uhlíkovými nanotubicemi byly vybrány na základě výsledků zvlákňování z experimentu 2 a to tak, aby byly zastoupeny všechny tři druhy použitých nanotubic, které šly zvláknit, pokud možno ve stejném množství obsahu uhlíkových nanotubic. Mělo se tedy jednat o směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000, 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 3152 a 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100. Při přípravě směsí bylo zjištěno, že zbývá pouze 0,179 g MWCNTs 3152, nakonec se tedy připravila směs 6 hmotnostních procent PCL s 0,6 hmotnostními procenty MWCNTs 3152. U směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000 bylo nakonec rozhodnuto pro snížení obsahu PCL na 4,5 hmotnostního procenta přidáním 10 g směsi roztoků (9 g chloroformu a 1 g ethanolu) do již namíchaného vzorku. Důvodem byla přílišná viskozita vzorku při předchozím zvlákňování. Směs 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100 zůstala v původním poměru. Experiment probíhal v laboratoři na soustavě pro zvlákňování z injekční stříkačky pro výrobu orientovaných nanovláken (viz obrázek 68), která byla sestavena v osvětleném výklenku s digestoří a stahovacími prosklenými dvířky. Místo kolektoru byly vybrány dvě tyčové elektrody z oceli, na které bylo přiváděno napětí z kladného zdroje a které byly mezi sebou vzdálené 35 mm, na jehlu bylo přiváděno napětí ze zdroje záporného. Injekční stříkačka měla opět průměr 5 mm, hrot jehly byl stejně jako pro experiment 2 obroušený kotoučem do vodorovné roviny. Vzdálenost hrotu od kolektoru byla 95 mm.

Před prvním zvlákňováním byla naměřena teplota vzduchu 19,5°C a vlhkost 35%. Jako první byl zvlákňován slepý vzorek s přiváděným napětím pouze na jehlu. Při druhém zvlákňování slepého vzorku bylo přivedeno napětí jak na jehlu, tak i na elektrody. Na jehlu bylo nejdříve přivedeno napětí 5 kV, následně 7 kV, na elektrody

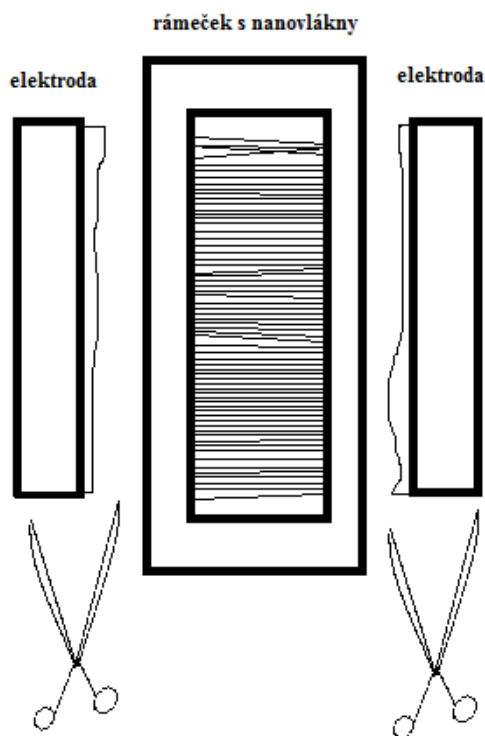
pouze 3 kV. Celkové napětí soustavy tedy činilo nejdříve 8kV, následně 10 kV. Výsledkem zvlákňování slepého vzorku byla vysoce orientovaná nanovláknna uložená mezi elektrodami (viz Obrázek 83). Orientace nanovláken odebraných z prostoru mezi elektrodami byla potvrzena na skenovacím elektronovém mikroskopu (Obrázek 84). Pro lepší odebrání nanovláken z prostoru mezi elektrodami byl na základě zvlákňování PVA v jiné diplomové práci [13] vyrobený rámeček z tvrdého papíru s okraji potřenými lepicí pastou, který se umístil pod a nad zvlákněnou vrstvu. Po umístění byly jeho okraje přimáčknuty k sobě. Nanovláknna mezi elektrodami a rámečkem byla oddělena nůžkami. V rámečku tedy zbyla orientovaná nanovláknna z prostoru mezi elektrodami (viz Obrázek 85).



Obrázek 83 Výsledek zvlákňování slepého vzorku na soustavě pro elektrostatické zvlákňování z injekční stříkačky pro výrobu orientovaných nanovláken. Z obrázku je patrná orientace nanovláken. Pro zvýraznění výsledku byl použitý černý papír, který sloužil jako podkladový materiál.



Obrázek 84 SEM zobrazení zvlákněných nanovláken ze slepého vzorku na soustavě pro zvláknění z injekční stříkačky pro výrobu orientovaných nanovláken. Zobrazená nanovláknina byla odebrána z prostoru mezi elektrodami. Měřítka je 100 μm .



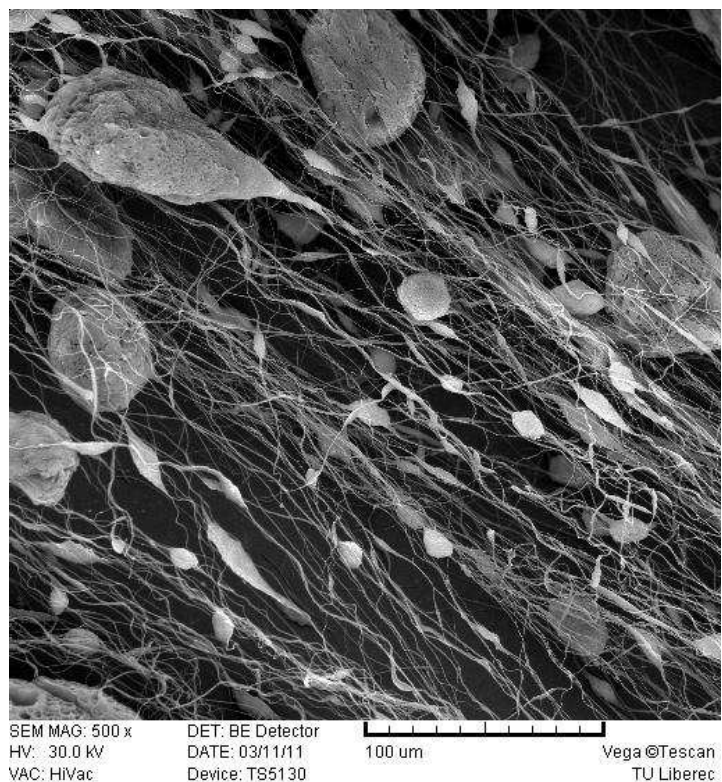
Obrázek 85 Náčrtek vyrobeného rámečku z tvrdého papíru pro odebrání nanovláken, který byl zhotoven na základě zvláknění PVA v jiné diplomové práci [13]. Okraje rámečku byly potřeny lepicí pastou. Rámeček byl umístěn pod a nad zvlákněnou vrstvou. Po umístění byly jeho okraje přimáčknuty k sobě. Nanovláknina mezi elektrodami a rámečkem byla oddělena nůžkami. V rámečku tedy zbyla orientovaná nanovláknina z prostoru mezi elektrodami bez vnějšího poškození.

Napětí 3 kV a 7 kV přiváděné na elektrody a na jehlu bylo použité i pro zvlákňování zbývajících směsí, PCL s uhlíkovými nanotubicemi SWCNTs 1100, MWCNTs 3152 a MWCNTs 7000. Při zvlákňování směsi uhlíkových nanotubic SWCNTs 1100 s PCL bylo nutné dodatečně zvýšit vlhkost vzduchu na 42% použitím mechanického rozprašovače. Vyšší vlhkost vzduchu zvýšila jeho vodivost, což mělo za následek lepší výsledky zvlákňování (Obrázek 86).

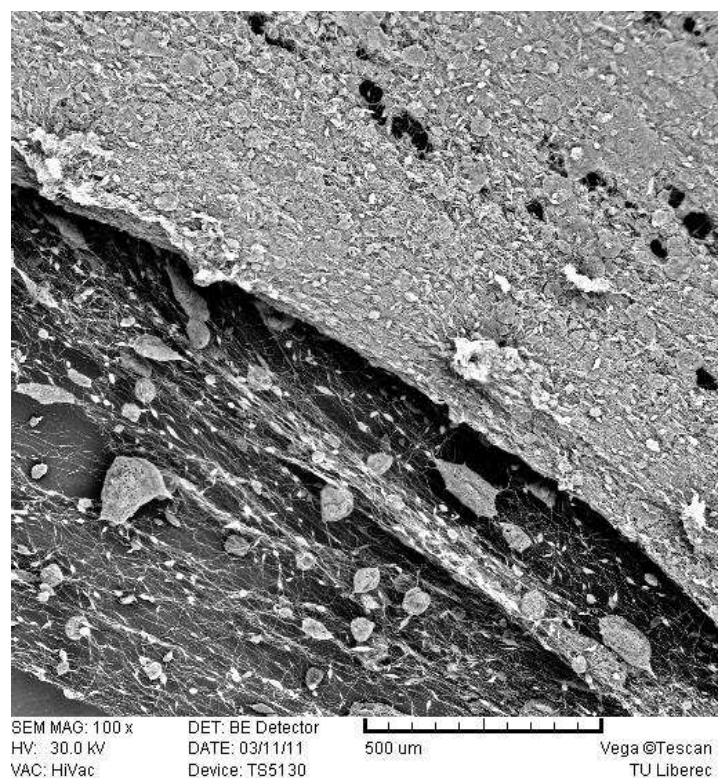


Obrázek 86 SEM zobrazení nanovláken ze směsi PCL s 1 hmotnostním procentem uhlíkových nanotubic SWCNTs 1100. Zobrazovaná nanovláknina byla odebrána z prostoru mezi elektrodami. Měřítka je 50 μm .

Mechanický rozprašovač na zvýšení vlhkosti vzduchu byl použit i v případě zvlákňování směsi PCL s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs 3152, kdy došlo k navýšení vlhkosti vzduchu na 48%. Zároveň ale klesla jeho teplota na 17,6°C. Při zvlákňování došlo k vedle výroby nanovláken i k odkapávání větších kapek směsi na již zvlákněnou vrstvu, výsledek je patrný na Obrázcích 87 a 88.



Obrázek 87 SEM zobrazení nanovláken ze směsi PCL s 0,6 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3152. Zobrazovaná nanovláknata byla odebrána z prostoru mezi elektrodami. Na obrázku jsou jasně patrné kapky směsi, které se při zvlákňování uvolňovaly z jehly. Měřítka je 100 µm.



Obrázek 88 SEM zobrazení nanovláken ze směsi PCL s 0,6 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3152. Při dopadání kapek směsi polymeru s uhlíkovými nanotrubicemi na již zvlákněnou plochu došlo k shrnutí vrstvy nanovláken k jedné straně, jak je patrné z obrázku. Měřítka je 500 µm.

Před zvlákňováním směsi 4,5 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem uhlíkových nanotubic MWCNTs 7000 byla naměřena vlhkost vzduchu 38% a teplota 19,7°C. Použité napětí bylo nejprve 7 kV na jehlu a 3 kV na elektrody, následně 11 kV na jehlu a 2 kV na elektrody. Směs se nepodařilo zvláknit ani při 48% vlhkosti vzduchu, která byla navýšena mechanickým rozprašovačem.

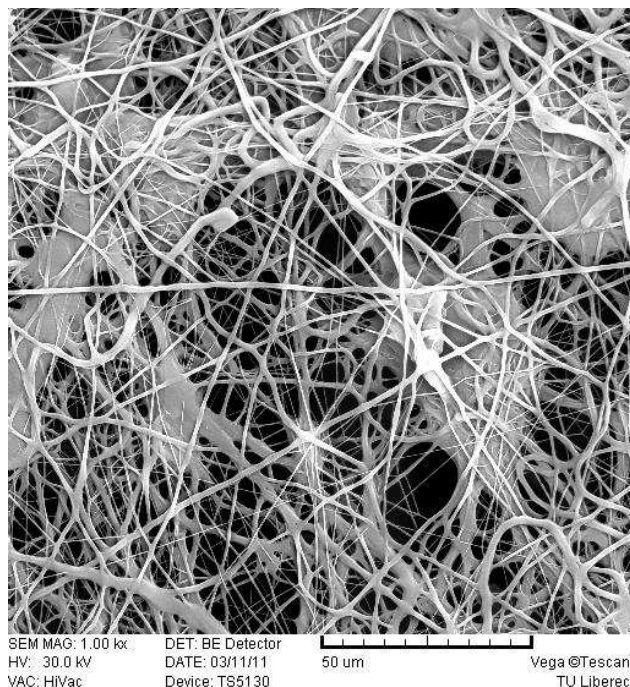
Úspěšně zvlákněné směsi byly podrobeny zkoumání na skenovacím elektronovém mikroskopu. Vzorky byly před vložením do skenovacího elektronového mikroskopu pozlaceny vrstvou zlata (vrstva byla silná 10 nm) při napětí 45 kV ve vakuu. Během prohlížení vytvořených nanovláken na SEM došlo k poškození (vznik trhlinek) podkladového materiálu (oboustranné lepicí pásky), na kterém byla nanovláknna umístěna, a to vlivem velké energie elektronů dopadajících na zkoumanou oblast.

Pro lepší přehlednost jsou výše uvedené vzorky a jejich výsledky při zvlákňování uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3 Přehled zvlákňovaných směsí na soustavě pro zvlákňování z injekční stříkačky pro výrobu orientovaných nanovláken včetně dosažených výsledků. Z přehledu jsou jasné patrné nejlepší výsledky pro slepý vzorek a pro směs PCL s uhlíkovými nanotubicemi SWCNTs 1100. Nejhorší výsledky byly dosaženy pro směs PCL s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs 7000, kdy se směs nepodařilo vůbec zvláknit.

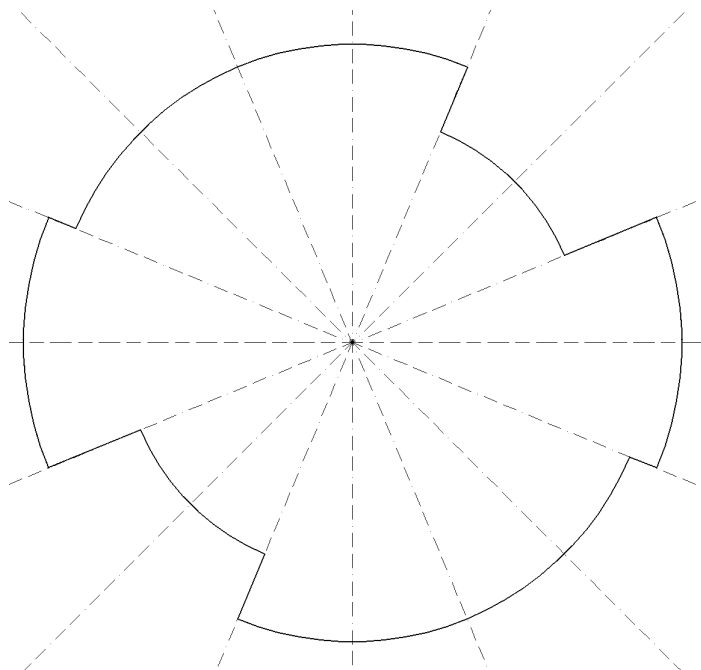
Typ CNTs	Obsah CNTs	Obsah PCL	Zvlákňování	Celkové napětí
slepý vzorek		10 hmotnostních %	vysoce orientovaná nanovláknna při vlhkosti vzduchu 35%	8 kV, následně 10 kV
SWCNTs 1100	1 hmotnostního %	6 hmotnostních %	vlhkost vzduchu navýšena na 42%, vysoce orientovaná nanovláknna	10 kV
MWCNTs 3152	0.6 hmotnostní %	6 hmotnostních %	vlhkost vzduchu navýšena na 48%, orientovaná nanovláknna s kapkami směsi	10 kV
MWCNTs 7000	1 hmotnostní %	4.5 hmotnostních %	vlhkost vzduchu nejprve 38 %, poté navýšena na 48 %, směs se nepodařilo zvláknit	10 kV, následně 13 kV

Pro vyhodnocení orientace nanovláken (v úspěšně zvlákněných vzorcích z experimentu 3) byla použita metoda směrové růžice, která byla aplikovaná na SEM snímky nanovláken (od každého vzorku byly vybrány 3 snímky) pro slepý vzorek, vzorek 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic SWCNTs 1100 a vzorek 6 hmotnostních procent PCL s 0,6 hmotnostními procenty uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3152. Pro porovnání výsledků byla vypracována směrová růžice i pro 3 snímky nanovláken vyrobených ze směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100 na soustavě pro zvláknování z tyčky (viz Obrázek 65), na které vznikají vlakenné vrstvy s náhodně uspořádanými nanovláknky (viz Obrázek 89).

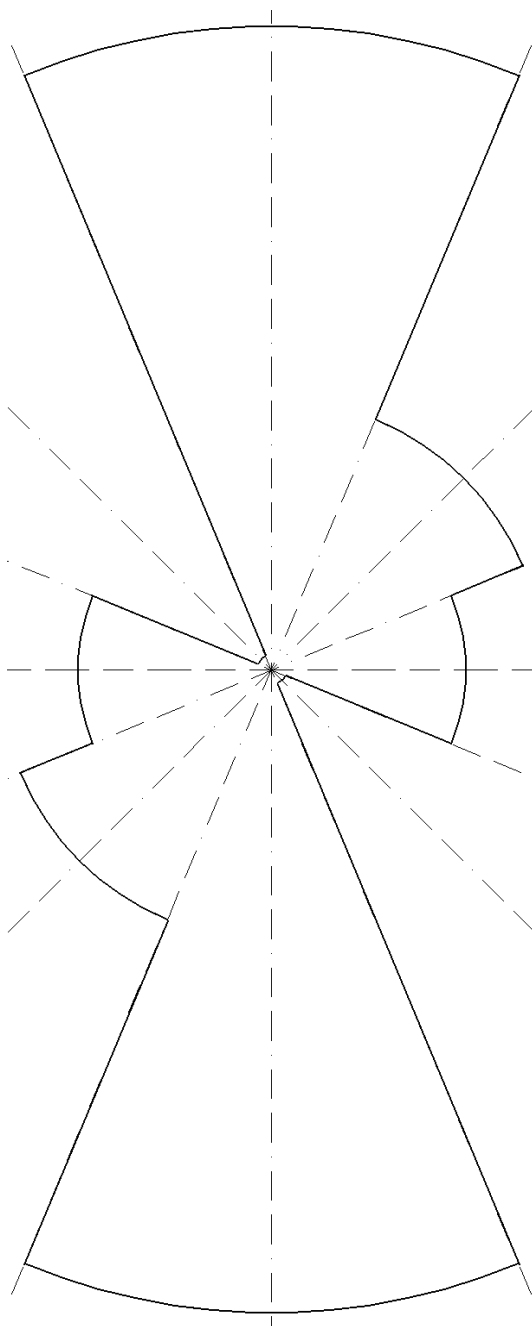


Obrázek 89 SEM zobrazení nanovláken ze směsi PCL s 1 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic SWCNTs 1100. Směs byla zvlákněna na soustavě pro elektrostatické zvláknování z tyčky. Z obrázku je patrné náhodné uspořádání nanovláken. Měřítka je 50 μm .

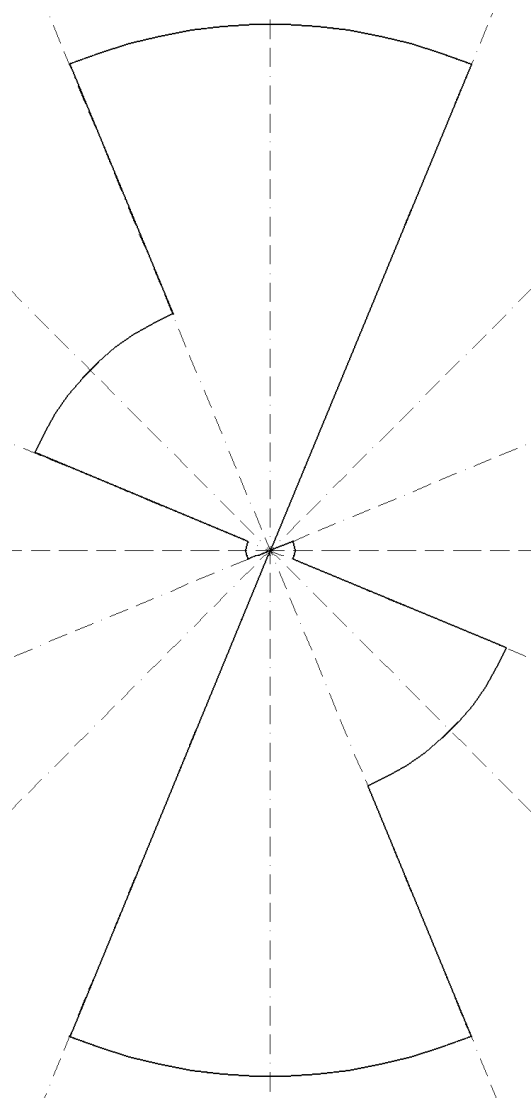
Výsledné směrové růžice jsou na Obrázcích 90 až 93. Hlavní osa je ve směru orientace.



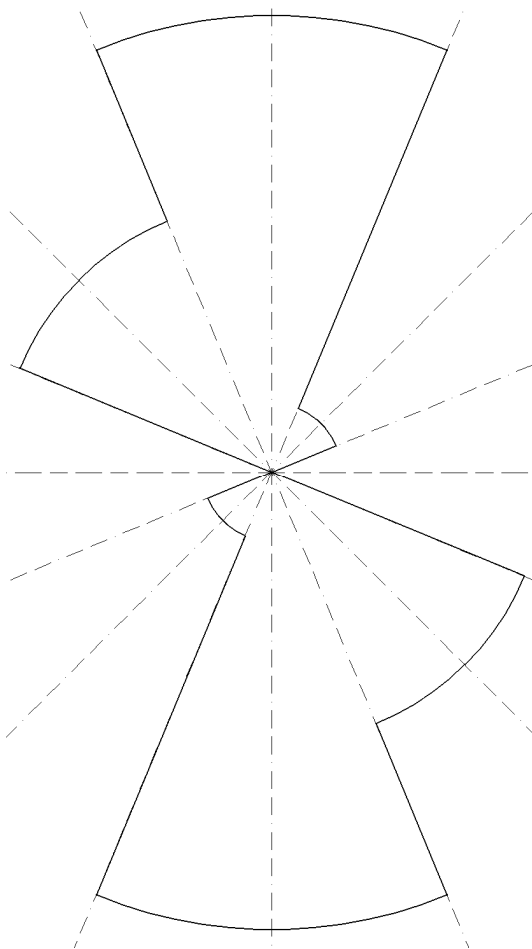
Obrázek 90 Směrová růžice sestavená na základě SEM snímků nanovláken vyrobených ze vzorku PCL s uhlíkovými nanotubicemi SWCNTs 1100 na soustavě pro zvlákňování z tyčky. Z obrázku je jasná neuspořádaná orientace nanovláken.



Obrázek 91 Směrová růžice sestavená na základě SEM snímků nanovláken vyrobených ze vzorku PCL s uhlíkovými nanotubicemi MCNTs 3152 na soustavě pro zvlákňování z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken. Z obrázku je patrná uspořádaná orientace nanovláken.



Obrázek 92 Směrová růžice sestavená na základě SEM snímků nanovláken vyrobených ze vzorku PCL s uhlíkovými nanotubicemi SWCNTs 1100 na soustavě pro zvlákňování z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken. Z obrázku je patrná uspořádaná orientace nanovláken, která je z daných vzorků nejlepší.

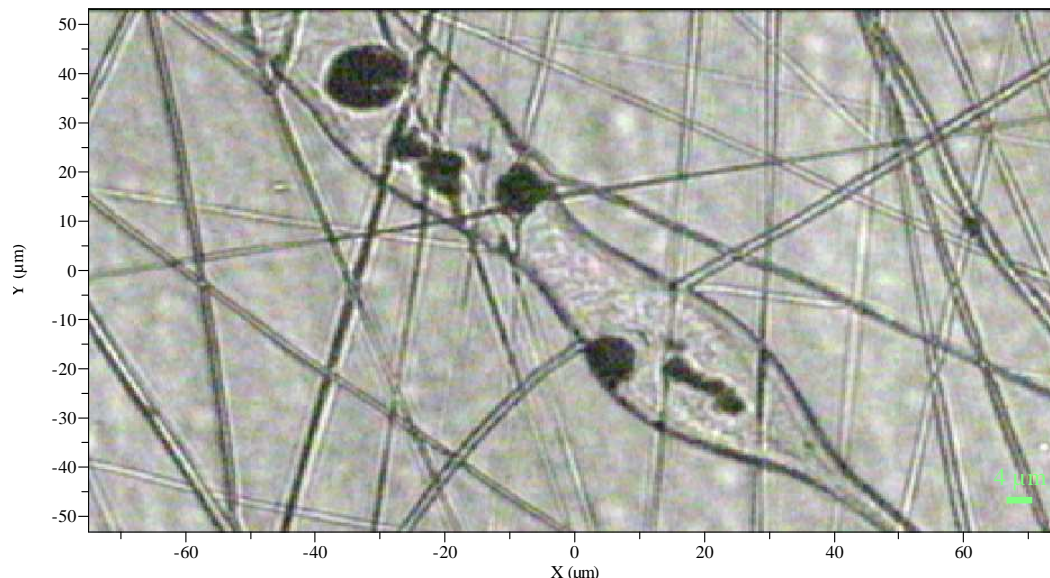


Obrázek 93 Směrová růžice sestavená na základě SEM snímků nanovláken vyrobených ze slepého vzorku na soustavě pro zvlákňování z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken. Z obrázku je patrné vysoce orientované uspořádání nanovláken.

Zvlákněná nanovláknina byla z hlediska posouzení obsahu uhlíkových nanotrubic podrobena zkoumání Ramanovou spektroskopií. Zařízení pro Ramanovu spektroskopii bylo Horiba JOBIN Yvon – LabRam IR s mikroskopem Olympus BX41. Oblast měřicího bodu měla 1,2 μm v průměru. Povrchová morfologie byla studována na zařízení SEM Tescan, Vega na KTM, FT, TUL.

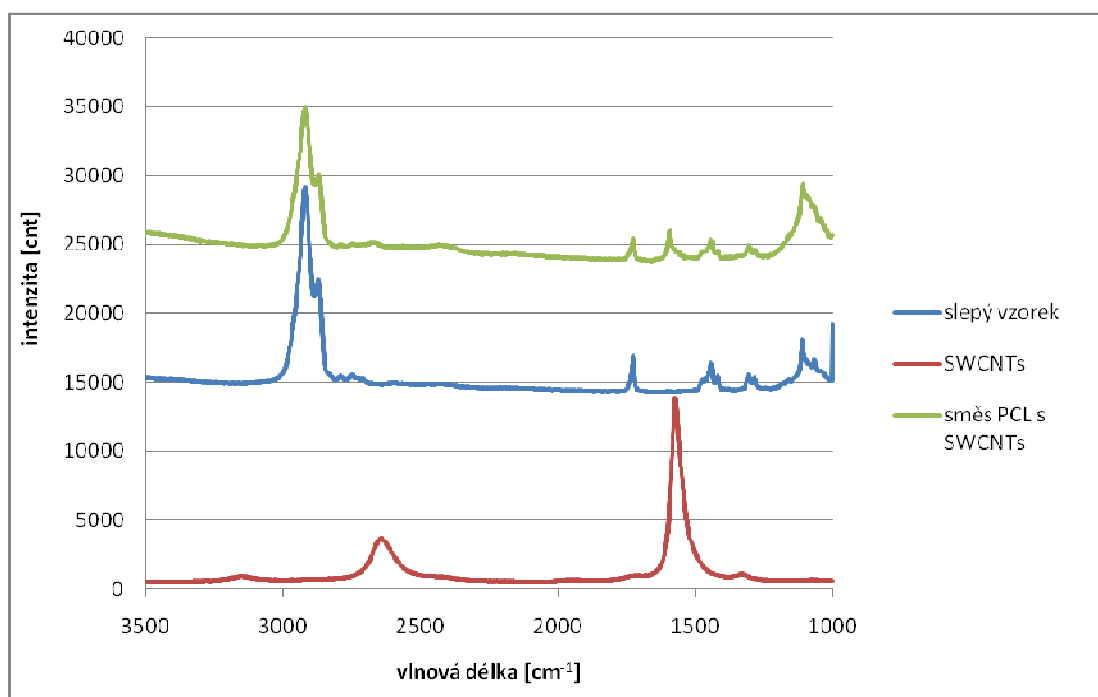
Vzorky na Ramanovu spektroskopii byly připraveny pomocí zvlákňování z tyčky (při posouzení obsahu uhlíkových nanotrubic nebyla orientace nanovláken stěžejním problémem). Tímto způsobem se podařilo při napětí 20 kV zvláknit směs pro slepý vzorek a směs 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic SWCNTs 1100. Směs 4,5 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem uhlíkových nanotrubic MWCNTs 7000 a směs 6 hmotnostních procent PCL s 0,6 hmotnostními procenty uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3152 se nepodařilo touto metodou zvláknit ani při napětí 30 kV.

Ramanova spektroskopie potvrdila obsah uhlíkových nanotrubic v nanovlákněch. Rozložení nanotrubic nebylo rovnoměrné, v některých místech tvořily nanotrubice shluky (viz Obrázek 94), v některých naopak zcela chyběly.



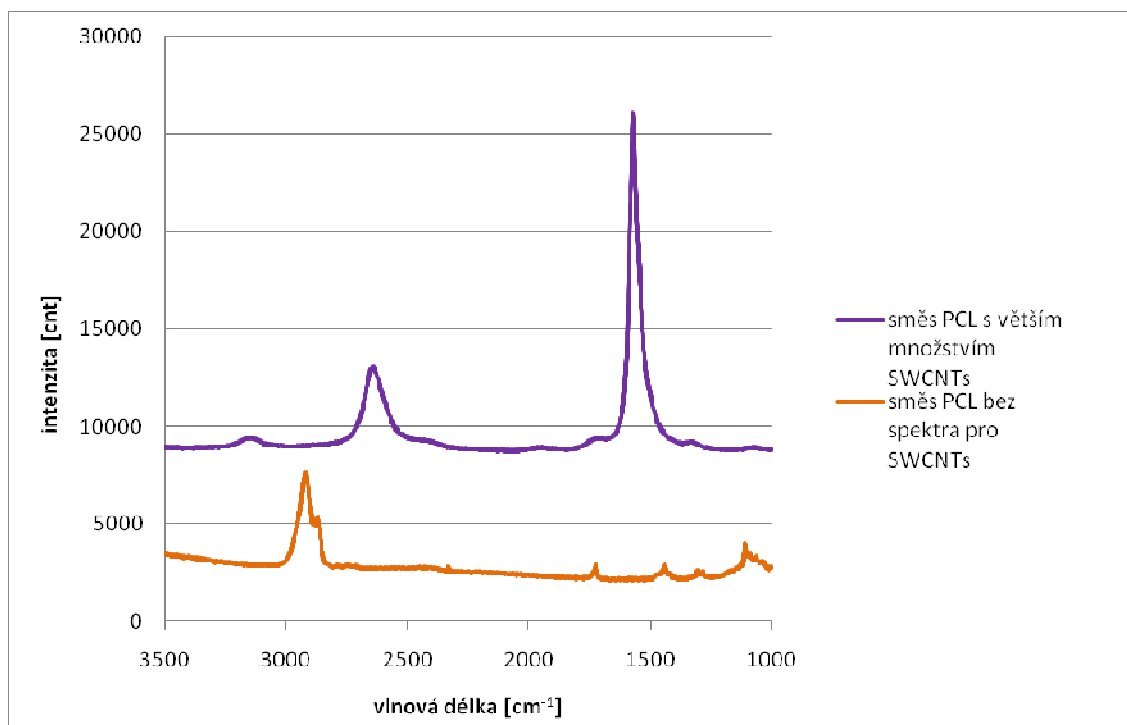
Obrázek 94 SEM zobrazení směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100. Ve vlákně jsou viditelné shluky nanotrubic. Měřítka je 4 μm .

Základní porovnání spekter SWCNTs 1100, samotného PCL a směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100 je na Obrázku 95.



Obrázek 95 Výsledný graf z Ramanovy spektroskopie. Pro SWCNTs 1100 je typický pík kolem 1600 cm^{-1} , pro vazbu C-H (uhlík-vodík), která je přítomna v PCL, ale není u SWCNTs 1100, je typický pík 3000 cm^{-1} . Spektrum pro směs 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100 potvrzuje přítomnost nanotrubic v polykaprolaktonu.

Porovnání spekter pro směs 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs s větším obsahem uhlíkových nanotubic v PCL a směsi PCL s SWCNTs bez uhlíkových nanotubic je na Obrázku 96. Z porovnání je zřejmé nerovnoměrné rozložení uhlíkových nanotubic.



Obrázek 96 Porovnání spekter pro směs 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs s větším obsahem uhlíkových nanotubic v PCL a směsi PCL s SWCNTs bez uhlíkových nanotubic. Z porovnání je zřejmé nerovnoměrné rozložení uhlíkových nanotubic.

3.4 Výsledky a diskuse

V rámci této diplomové práce byla na základě požadavků tkáňového inženýrství vyrobena nanovláknina z několika různých směsí uhlíkových nanotubic a polykaprolaktonu. V části výsledky a diskuse jsou shrnuty dílčí výsledky jednotlivých experimentů, diskutovány a zdůvodněny možné problémy zvláknování a vlastností nanovláken.

3.4.1 Výsledky experimentu 1

Výsledkem rozmíchání jednotlivých typů nanotubic ve směsi rozpouštědel chloroformu a ethanolu byly, až na typ uhlíkových nanotubic MWCNTs 3152, shluky. To bylo následně potvrzeno i při studiu vzorků v mikroskopu na počítači. Nejvíce

vypovídající zobrazení rozmíchání uhlíkových nanotubic poskytuje Obrázek 69. Následné rozmíchání uhlíkových nanotubic MWCNTs 3152 a MWCNTs 7000 sonotrodou vedlo k rozbití shluků, a tím pádem i k lepšímu rozmístění uhlíkových nanotubic v rozpouštědlech. První zvlákňování z volné hladiny (z tyčky) nepřineslo, až na dloužení slepého vzorku, požadovaný výsledek vydloužených nanovláken. Hlavním důvodem neúspěchu během zvlákňování byla přílišná viskozita vzorků.

3.4.2 Výsledky experimentu 2

Pro druhý experiment byla použita soustava pro zvlákňování z injekční stříkačky, tedy za pomoci tlaku. Tato soustava byla jasně vhodnější pro výrobu nanovláken než soustava pro zvlákňování z tyčky. Po prvním zvlákňování na soustavě došlo ke snížení viskozity vzorků na 6 a 8 hmotnostních procent PCL s různými typy uhlíkových nanotubic, mimo jiné i s SWCNTs 1100. Slepý vzorek již nebyl zvlákňován, jelikož byla jeho zvlákňovitost potvrzena v prvním experimentu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo právě pro směs SWCNTs s PCL, směsí 6 hmotnostních procent PCL s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs 7000 (0,5 hmotnostního procenta a 1 hmotnostního procenta) a 1 hmotnostního procenta MWCNTs 3152 měly také dobré výsledky. Směs s 1,5 hmotnostním procentem MWCNTs 7000 byla na zvlákňování příliš viskózní. Pro třetí experiment byly vybrány vzorky 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem MWCNTs 7000, SWCNTs 1100 a MWCNTs 3152, jelikož právě směsí s 6 hmotnostními procenty PCL měly oproti směsím s 8 hmotnostními procenty PCL lepší výsledky při zvlákňování. Pro možnosti budoucího porovnání výsledků zvlákňování bylo vybráno na základě výsledků zvlákňování druhého experimentu 1 hmotnostní procento od uvedených typů uhlíkových nanotubic.

3.4.3 Výsledky experimentu 3

Jak již bylo uvedeno v samotném popisu třetího experimentu, muselo dojít ke snížení hmotnostního zastoupení uhlíkových nanotubic MWCNTs 3152 na 0,6 hmotnostních procent. U směsi uhlíkových nanotubic MWCNTs 7000 došlo ke snížení obsahu PCL až na 4,5 hmotnostního procenta, ale ani toto snížení nevedlo k úspěšnému zvlákňování směsi. Jelikož se jednalo o zvlákňování na soustavě z injekční stříkačky pro

výrobu orientovaných nanovláken, byla opět zvláknována i směs pro slepý vzorek. Výsledky vzorků z experimentu 3 po zkoumání na SEM jsou uvedeny níže.

Na slepém vzorku byla vlákna jasně orientovaná. Čím byla vlákna blíže povrchu vzorku, tím byla v průměru silnější. Tento jev byl způsoben viskozitou směsi v závislosti na vypařování rozpouštědel. První vlákna byla tenčí, během pokusu došlo k pomalému odpařování rozpouštědel ze směsi v injekční stříkačce, což mělo za následek zvýšení viskozity zvláknované směsi. Na tloušťku vláken mělo vliv i postavení elektrod umístěných pod jehlou pod úhlem, který byl vytvořený podkladovou destičkou z polystyrenu, a velikost napětí (vyšší napětí tahalo z jehly více směsi). Některá vlákna byla zpřetrhaná a měla malou orientaci, ačkoliv se na první pohled ze zvlákněné vrstvy zdálo, že byla všechna vlákna vydloužena bez problémů. Tento jev mohl být opět způsoben nevhodným nastavením napětí.

Na vzorku 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100 byla patrná velmi jemná vlákna s malými rozdíly. Jednalo se spíše o svazky vláken. Hlavním problémem při zkoumání tohoto vzorku byla rychlá degradace podkladového materiálu, na kterém byla nanovlákna umístěna.

Na vzorku 6 hmotnostních procent PCL s 0,6 hmotnostním procentem MWCNTs 3152 byly jasně patrné kapky směsi, které byly vytvořeny díky Rayleighově nestabilitě (kapalinový sloupec o poloměru r , na který působí porucha o vlnové délce λ , je nestabilní a v důsledku povrchových sil se rozpadne na kapičky v případě, že délka sloupce je delší než $2\pi r$ [81]). Rayleighova nestabilita byla patrná v případě, kdy bylo v injekční stříkačce příliš mnoho rozpouštědla, které se před dopadem nestihlo vypařit. Po dopadu dloužené směsi na kolektor se vlákna začala přetvářet do kapek. Větší kapky byly vytvořeny směsí, která se nestihla před dopadem na kolektor vydloužit (viz Obrázky 87. a 88.).

U některých nanovláken, která nebyla zcela vydloužená, bylo pozorováno vytváření svazků (nanovlákna se k sobě po uspořádání mezi elektrodami přilepila).

Pro každý vzorek byla vyhotovena výsledná směrová růžice (každý vzorek byl zastoupen třemi snímky z různých míst vzorku). Směrové růžice jsou uvedeny na Obrázcích 90 – 93. Jako první byla prezentována směrová růžice pro nanovláknennou vrstvu vyrobenou na soustavě pro zvláknování z tyčky. Z růžice je jasně patrné neuspořádané rozložení nanovláken ve vláknenné vrstvě (Obrázek 90). Směrová růžice pro vláknennou vrstvu PCL s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs 3152 uvedená na Obrázku 91 oproti tomu zobrazuje uspořádané uložení nanovláken ve vrstvě.

Nanovláknna ze směsi PCL s uhlíkovými nanotrubicemi SWCNTs 1100 jsou podle směrové růžice na Obrázku 92 velmi vysoce orientovaná, z daných vzorků nejvíce (v hlavní ose je velmi vysoká orientace nanovláken, v ostatních osách je menší zastoupení nanovláken než u ostatních vzorků). Jako poslední byla sestrojena směrová růžice pro slepý vzorek (Obrázek 93). Z této směrové růžice je patrné velmi vysoké uspořádání nanovláken v hlavním směru.

Na základě snímků z elektronového mikroskopu byly změřeny průměrné hodnoty průměrů nanovláken uvedených v Tabulce 4.

Tabulka 4 Přehled změřených průměrných hodnot průměrů zvlákněných nanovláken v experimentu 3. na elektronovém mikroskopu. Z tabulky je patrná nejmenší odchylka pro nanovláknna ze směsi 1 hmotnostního procenta SWCNTs 1100 s 6 hmotnostními procenty PCL vyrobených na soustavě pro zvláknění z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken.

Typ směsi a soustava pro zvláknění	Průměr nanovláknna
1 hmotnostní procento SWCNTs 1100 s 6 hmotnostními procenty PCL na soustavě pro zvláknění z tyčky	481±344 nm
1 hmotnostní procento SWCNTs 1100 s 6 hmotnostními procenty PCL na soustavě pro zvláknění z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken	391±92 nm
0,6 hmotnostních procent MWCNTs 3152 s 6 hmotnostními procenty PCL na soustavě pro zvláknění z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken	325±247 nm
Slepý vzorek na soustavě pro zvláknění z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken	318±230 nm

Největší průměr měla náhodně orientovaná nanovláknna. Pro ně je patrná i největší variabilita průměrů. Druhý nejmenší průměr měla orientovaná nanovláknna ze směsi 0,6 hmotnostních procent MWCNTs 3152 s 6 hmotnostními procenty PCL, nicméně i pro ně platí poměrně vysoká variabilita průměrů. U slepého vzorku měla nanovláknna také velkou variabilitu průměrů, průměr nanovláken je pro slepý vzorek nejmenší. Nejlépe tak vycházejí orientovaná nanovláknna ze směsi 1 hmotnostního procenta SWCNTs s 6

hmotnostními procenty PCL, která měla sice třetí největší průměr, ale s nejmenší variabilitou.

Výsledky z Ramanovy spektroskopie potvrdily obsah uhlíkových nanotubic ve vydloužených (náhodně orientovaných) nanovlákních vyrobených ze směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100. Rozložení uhlíkových nanotubic bylo nerovnoměrné, nanovlákně obsahovala místa s větší koncentrací uhlíkových nanotubic i slepá místa bez nanotubic. Porovnání spekter nanovláken vydloužených ze slepého vzorku (spektrum pro PCL), samotných uhlíkových nanotubic SWCNTs 1100 a směsi 6 hmotnostních procent PCL s 1 hmotnostním procentem SWCNTs 1100 je na Obrázcích 95 a 96.

3.4.4 Diskuse

Na soustavě pro zvlákňování z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken se podařilo připravit nanovlákně ze směsi PCL s uhlíkovými nanotubicemi MWCNTs a SWCNTs, u kterých byla orientace potvrzena metodou směrové růžice a obsah uhlíkových nanotubic Ramanovou spektroskopií. Pro další vývoj této metody z hlediska použití při regeneraci nervové tkáně je nutné vyřešit regulaci dodávaného polymeru injekční stříkačkou. Správnou regulací by se dalo dosáhnout výroby nanovláken s menším průměrem a rovnoměrnější variabilitou průměrů. Regulace polymeru může zásadně ovlivnit i nežádoucí slepování vydloužených vláken. Do budoucna je nutné vyřešit i regulaci napětí a vhodnou vzdálenost elektrod a hrotu injekční stříkačky. Tyto parametry mohou mít také zásadní vliv na případné slepování nedostatečně vydloužených nanovláken. Během zvlákňování z trysky může docházet i k zatuhnutí zvlákňované směsi v jehle. Tento nežádoucí efekt je způsoben přístupem vzduchu k zvlákňované směsi a mohl by být odstraněn lepším utěsněním jehly na injekční stříkačce. Dalším parametrem výroby nanovláken s uhlíkovými nanotubicemi je hmotnostní zastoupení jednotlivých materiálů. Změna obsahu PCL nebo uhlíkových nanotubic může výrazně ovlivnit vlastnosti vydloužených nanovláken. Pro směs PCL s uhlíkovými nanotubicemi SWCNTs by se mělo zvážit navýšení obsahu obou komponent (směs byla při dloužení málo viskózní), u směsi PCL s MWCNTs 7000 by se mělo naopak uvažovat o možném dalším snížení obsahu komponent (směs byla i při 4,5 hmotnostních procentech PCL příliš viskózní a nepodařilo se ji zvláknit). Snížení

obsahu materiálů by nemělo překročit mezní hranici, při které již nebudou zvlákněná nanovlákna splňovat požadované vlastnosti pro regeneraci nervové tkáně.

K zvláknování byly použité různé druhy uhlíkových nanotubic, od MWCNTs s nižší čistotou, MWCNTs s vyšší čistotou až po SWCNTs. Z ekonomického hlediska by byly nejvhodnější MWCNTs 7000, které se ale nepodařilo na soustavě pro zvláknování z trysky pro výrobu orientovaných nanovláken zvláknit. Nejlepších výsledků dosahovala nanovlákna s uhlíkovými nanotubicemi SWCNTs, které patří mezi ekonomicky nákladnější materiál. Jelikož se ale pro účely této diplomové práce nejedná o výrobu velkých výrobků, pouze o několikacentimetrové jednovrstvé scaffoldy, nemuselo by být možné budoucí použití SWCNTs v medicíně z hlediska nákladů tak nevýhodné.

Na základě několika studií bylo prokázáno, že SWCNTs mohou za určitých podmínek degradovat in vitro. Tato zjištění poukazují na možnost použití SWCNTs pro budoucí výrobu scaffoldů bez hrozby vzniku nežádoucích reakcí v lidském organismu [82, 83].

Před možným budoucím použitím uhlíkových nanotubic v medicíně musí dojít k jejich dodatečnému dočištění, které povede k odstranění nečistot a fullerenu. Nečistoty by mohly mít za následek nežádoucí reakce v organismu.

Mimo jiné je nutné provést skutečné in vitro studie, které se pro tyto materiály připravují (pro materiály vyrobené v této diplomové práci) na ÚEM AVČR.

Při dalším vývoji tohoto materiálu by mohlo být využito i koaxiálního zvláknování. V případě koaxiálního zvláknování se mohou do jádra vložit jinak obtížně zvláknitelné materiály. Toho by se dalo využít při nutnosti zakombinovat do polymerní směsi větší množství uhlíkových nanotubic. Aby nedocházelo k uvolňování uhlíkových nanotubic z jádra vydlouženého vlákna, musela by se jejich soudržnost zajistit rozmícháním v menším množství polymeru (například PCL).

4. ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo připravit speciální nanovlákněný (elektrostaticky zvlákněný), elektricky vodivý, scaffold s využitím uhlíkových nanotubic pro možné budoucí použití při rekonstrukci nervové tkáně. Scaffold měl z důvodu budoucího použití v lidském organismu splňovat i podmínku biodegradability a biokompatibility. Zakombinované uhlíkové nanotrubice měly zajistit elektrickou vodivost vyrobeného materiálu. Jelikož je pro správný růst nervové tkáně důležitá i orientace nanovláken ve scaffoldu, musel být výsledný materiál připravený z uspořádaně orientovaných nanovláken.

V diplomové práci byly popsány metody přípravy nanovlákněné vrstvy, vlastnosti nervové tkáně a použitých materiálů. Na základě požadovaných vlastností vyráběného scaffoldu byl pro přípravu směsi k elektrostatickému zvláknění vybrán polykaprolakton a uhlíkové nanotrubice MWCNTs (různé čistoty a povrchové úpravy) a SWCNTs. Z připravených směsí s různým hmotnostním zastoupením jednotlivých materiálových komponent probíhalo elektrostatické zvláknění z tyčky a z trysky, jak pro zvláknění náhodně orientovaných, tak pro zvláknění uspořádaně orientovaných nanovláken. Výsledný materiál byl porovnáván z hlediska orientace nanovláken pomocí směrových růžic a z hlediska obsahu uhlíkových nanotubic ve výsledných nanovlákních pomocí Ramanovy spektroskopie. Ramannova spektroskopie potvrdila obsah uhlíkových nanotubic ve vydloužených nanovlákních, našla se ale i místa s většími shluky nebo naopak místa bez uhlíkových nanotubic. Sestrojené směrové růžice s hlavní osou ve směru orientace poukázaly na orientaci nanovláken v jednotlivých nanovlákněných vrstvách s náhodně orientovanými a uspořádaně orientovanými nanovlákníky.

Nejlepších výsledků bylo dosaženo pro scaffold z orientovaných nanovláken ze směsi polykaprolaktonu s jednostěnnými uhlíkovými nanotubicemi, které patří svou cenou mezi nákladnější materiály. Naopak nejhorších výsledků bylo dosaženo pro směs polykaprolaktonu s mnohostěnnými uhlíkovými nanotubicemi (bez povrchové úpravy), která nešla v některých případech vůbec zvláknit. Scaffold ze směsi polykaprolaktonu s jednostěnnými uhlíkovými nanotubicemi je tedy z hlediska budoucího použití pro rekonstrukci nervové tkáně slibným materiálem. Cena uhlíkových nanotubic by pro jeho výrobu k medicínským účelům neměla být limitní. Vyrobený materiál by měl projít skutečným in vitro testováním na ÚEM AVČR, které se pro dané materiály připravuje.

5. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Scaffoldy pro tkáňové inženýrství chrupavky, E. Košťáková, Lékařské textílie 2. díl, Kolektiv autorů, 2008
- [2] Nanotechnologies in regenerative medicine, Š. Kubinová, E. Syková, 2010
- [3] Zdravotní rizika nanovláknenných materiálů, Diplomová práce, K. Komarníková, TUL, 2009
- [4] Velká věda o malých věcech Nanotechnologie, Z. Hájková, PřF UK, 2010
- [5] Electrospun Core-Sheath Fibers for Soft Tissue Engineering, B. S. Gupta, M. W. King, S. Hudson, E. G. Lobo, R. Hufenus, J. Gluck, A. Moghe, 2005
- [6] Electrospinning: An Enabling Technique for Nanostructured Materials, J. Xie and Y. Xia, Material Matters, Aldrich chemistry, I. Koltover, 2008
- [7] Electrospinning of PVA/carbon nanotube composite nanofibers: the effect of processing parameters, K. Molnár, E. Košťáková, L. Mészáros, 2008
- [8] Composite nanofibers produced by modified needleless electrospinning, E. Košťáková, L. Mészáros, J. Grégr, 2007
- [9] Electrospinning of Polymeric and Ceramic Nanofibers as Uniaxially Aligned Arrays, D. Li, Y. Wang and Y. Xia, NANOLETTERS, 2003
- [10] A review on polymer nanofibres by electrospinning and their applications in nanocomposites, Z. - M. Huang, Y. - Z. Zhang, M. Kotaki, S. Ramakrishna, Composites Science and Technology 63, 2003
- [11] Úvod do elektrostatičkého zvláknování, E. Košťáková, KNT, TUL, 2009
- [12] Výroba nití pomocí elektrostatičkého zvláknování, E. Košťáková, TUL, 2008
- [13] Výroba příze z nanovláken, L. Vysloužilová, Diplomová práce 2009, FT, TUL
- [14] M. Rampichová, ÚEM AVČR, Praha, 2010
- [15] The application of nanofibrous scaffolds in neural tissue engineering, H. Cao, T. Liu, S. Y. Chew, Advanced Drug Delivery Reviews 61, 2009
- [16] Thermal and technical technologies of nonwovens production, K. Kalinová, TUL, 2006
- [17] Curled Poly(ethylene glycol terephthalate)/Poly(ethylene propanediol terephthalate) Nanofibers Produced by Side-by-side Electrospinning, B. Zhang, C. Li, and M. Chang, 2009
- [18] Fabrication of structured micro and nanofibers by coaxial electrospinning, J. E. Díaz, A. Fernández-Nieves, A. Barrero, M. Márquez and I. G. Loscertales, 2008

- [19] Vlastnosti vláken, 1.4 Modifikace struktury a vlastností vláken a vztah k užitným a zpracovatelským vlastnostem vláken, J. Militký, J. Vaníček, KTM, FT, TUL, 2006
- [20] Fabrication of MWNTs/nylon conductive composite nanofibres by electrospinning, J. S. Jeong, S. Y. Jeon, T. Y. Lee, J. H. Park, J. H. Shin, P. S. Alegaonkar, A. S. Berdinsky, J. B. Yoo, 2006
- [21] <http://www.lekarske.slovníky.cz/pojem/synapse>, 2011
- [22] <http://slovník-cizích-slov.abz.cz/web.php/slovo/neurotransmitter>, 2011
- [23] <http://www.ece.rice.edu/~dhj/brain.html>, 1997
- [24] <http://lekarske.slovníky.cz/pojem/neuron>, 2011
- [25] Praktický slovník medicíny, M. Vokurka, J. Hugo, 9. vydání, 2008
- [26] <http://www.zdn.cz/clanek/priloha-pacientske-listy/ekg-a-eeg-vysetreni-447373>, 2009
- [27] http://biomech.ftvs.cuni.cz/pbpk/kompendum/biomechanika/experiment_metody_emg.php, 2011
- [28] Elektromyografie neboli EMG, M. Kasperová, 2007
- [29] Moderní pohled na formy a modifikace uhlíku, J. Grégr, TUL, 2004
- [30] Fulereny, Ing. Z. Benáková, Katedra matematiky, FSV – ČVUT v Praze, 2004
- [31] Vítejte v nanosvětě, P. Klusoň, M. Drobek, H. Bartková, I. Budil, Chemické Listy, 2007
- [32] Origins, Properties, and Applications of Carbon Nanotubes and Fullerenes, M. A. Rosso, 2001
- [33] <http://www.chem.wisc.edu/~newtrad/CurrRef/BDGTopic/BDGtext/BDGGraph.htm>)
- [34] <http://www.uwgb.edu/dutchs/Petrology/Diamond%20Structure.HTM>, 2001
- [35] Saito laboratoř, Nagoya University Graduate school
- [36] <http://academic.pgcc.edu/~ssinex/nanotubes/>, 2008
- [37] Uhlíkové nanotrubičky, 2. přednáška, Rozdělení, struktura, E. Košťáková, TUL, 2010
- [38] Seminář Textilie v novém tisíciletí V, J. Grégr, Katedra chemie, FP, TUL, 2007
- [39] Springer Handbook of Nanotechnology: Chapter 3, B. Bhushan, 2004
- [40] Materiály na bázi uhlíku a jejich využití, Bakalářská práce, M. Hrazdára, VUTB, 2009
- [41] <http://slovník-cizích-slov.abz.cz/web.php/slovo/ablace>, 2005-2006
- [42] Skupenské přeměny, Maturitní otázky do fyziky, M. Poláček, 2000

- [43] <http://www.museum.mineral.cz>, J. Drašnar, 2000-2011
- [44] Uhlíkové nanotrubičky, Syntéza – výroba, vlastnosti a uplatnění, E. Košťáková
- [45] Separační metody, P. Coufal, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, 2004
- [46] Centre for Molecular Nanoscience, Y. Peng, The University Of Sheffield
- [47] Strength and Breaking Mechanism of Multiwalled Carbon Nanotubes Under Tensile Load, M. – F. Yu, O. Lourie, M. J. Dyer, K. Moloni, T. F. Kelly, R. S. Ruoff, 2000
- [48] Proces tkáňového inženýrství, E. Košťáková, Lékařské textilie 2. díl, Kolektiv autorů, 2008
- [49] Advanced Drug Delivery Reviews 59, D. Liang et al., 2007
- [50] Tissue Engineering: Current State and Prospects, U. A. Stock, J. P. Vacanti, Harvard Medical School, Annual Review of Medicine, 2001
- [51] Novel nanocomposites and nanoceramics based on polymer nanofibers using electrospinning process – A review, I. S. Chronakis, 2005
- [52] Composite nanofibers by modified needleless electrospinning, E. Košťáková, L. Mészáros, J. Grégr, 2007
- [53] http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/amfifilni_molekula.html
- [54] Assembly of well-aligned multiwalled carbon nanotubes in confined polyacrylonitrile environments: electrospun composite nanofiber sheets, J. J. Ge, H. Hou, Q. Li, M. J. Graham, A. Greiner, D. H. Reneker, F. W. Harris, S. Z. D. Cheng, 2004
- [55] Výzkumné centrum pro nanopovrchové inženýrství, 2006
- [56] Composite Polymer Nanofibers with Carbon Nanotubes and Titanium Dioxide Particles, S. Kedem, J. Schmidt, Y. Paz, Y. Cohen, 2005
- [57] Nanoscale surfacing for regenerative medicine, Y. Yang, K. W. Leong, 2010
- [58] Electrospun nanofibrous threads for medicine, E. Košťáková, M. Košťáková, P. Pokorný, D. Lukáš, 2007
- [59] Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications, D. Liang, B. S. Hsiao, B. Chu, Advanced Drug Delivery Reviews, 2007
- [60] Tissue Engineering in the Nervous system, Tissue Engineering – Principles and Applications in Engineering Series, B. Palsson, J. A. Hubbel, R. Plonsey, J. D. Bronzino, 2003
- [61] <http://slovník-cizích-slov.abz.cz/web.php/slovo/humoralni>

- [62] Engineering electrospun nanofibrillar surfaces for spinal cord repair: a discussion, S. Meiners, I. Ahmed, A. S. Ponery, N. Amor, S. L. Harris, V. Ayres, Y. Fan, Q. Chen, R. Delgado-Rivera, A. N. Babu, 2007
- [63] <http://slovník-cizích-slov.abz.cz/web.php/slovo/alifaticky>
- [64] Úvod do studia organické a makromolekulární chemie, H. Schejbalová, I. Stibor, 2004
- [65] MEDICAL TEXTILE 1: Biomedicinální polymery (Polymerní biomateriály), L. Martinová, TUL, KNT, 2008,
- [66] Katalytické systémy pro polymerace cyklických esterů, Diplomová práce, K. Krpoun, VUTB, 2010
- [67] The Complete Book on Biodegradable Plastics and Polymers, Recent Developments, Properties, Analysis, Materials & Processes, NIIR Board, 2006
- [68] The return of forgotten polymer: Polycaprolactone in the 21st century, M. A. Woodruff, D. W. Hutmacher, 2010
- [69] Biomedicinální polymery (Polymerní biomateriály), L. Martinová, TUL, KNT
- [70] Polykaprolakton, jeho syntéza, charakterizace a degradabilita, Z. Neumayerová VUTB, 2010
- [71] Elektrostatické zvlákňování polykaprolaktonu pro aplikaci v tkáňovém inženýrství, Diplomová práce, D. Brezovianová, FT/TUL, 2008
- [72] Chemie, P. Stránský, 2007
- [73] <http://www.irz.cz/irz/latky/trichlormethan.html>, 2005-2008
- [74] <http://www.converter.cz/tabulky/vzduch.htm>, 2002
- [75] <http://chemie.gymnachod.cz/>
- [76] <http://www.ucebnicechemie.wz.cz/index.php?sloucenina=ethanol>
- [77] <http://projektalfa.ic.cz/tabulky1.htm>
- [78] <http://eltamiz.com/2007/04/15/los-nuevos-biocombustibles/>
- [79] www.nanocyl.com, 2009
- [80] <http://lucy.troja.mff.cuni.cz/~tichy/elektross/svitime/korona.html>
- [81] Smáčení vlákných útvarů, disertační práce, J. Chaloupek, 2007
- [82] Biodegradation of Single-Walled Carbon Nanotubes by leukocytic myeloperoxidase, I. I. Vlasova, A. V. Chekanov, V. A. Matskevich and A. V. Sokolov, Research Institute for Physico-Chemical Medicine, Moscow, Russia

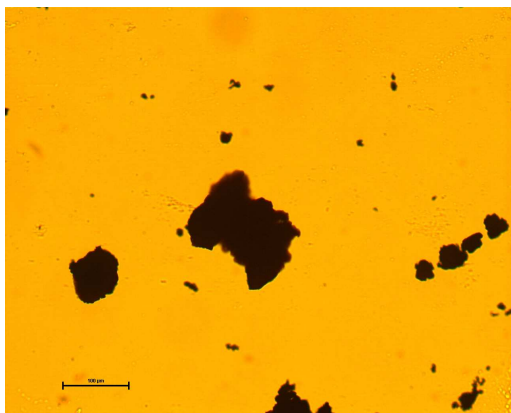
[83] Effects of carbon nanotubes (CNTs) on the processing and in-vitro degradation of poly(DL-lactide-co-glycolide)/CNT films, I. Armentano, M. Dottori, D. Puglia, J. M. Kenny, 2007

6. SEZNAM PŘÍLOH

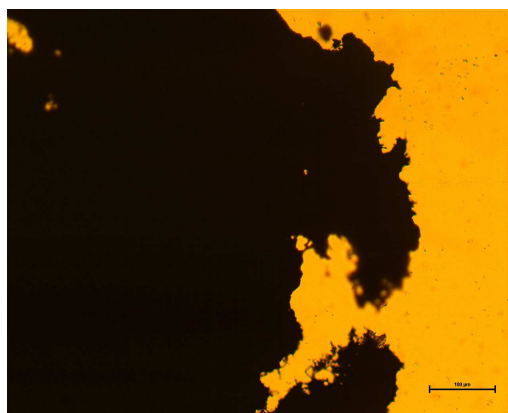
Příloha 1 Vzorové snímky rozmíchaných uhlíkových nanotrubic pro experiment 1.

PŘÍLOHY

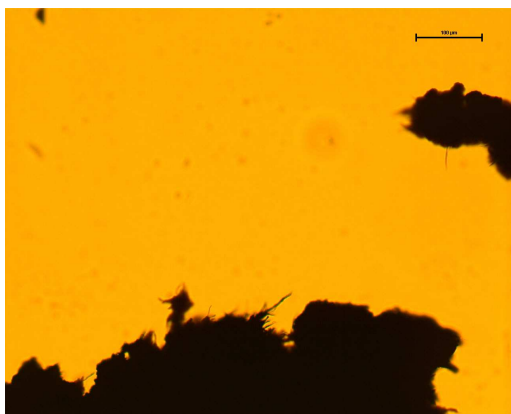
Příloha 1 Vzorové snímky rozmíchaných uhlíkových nanotrubic pro experiment 1.



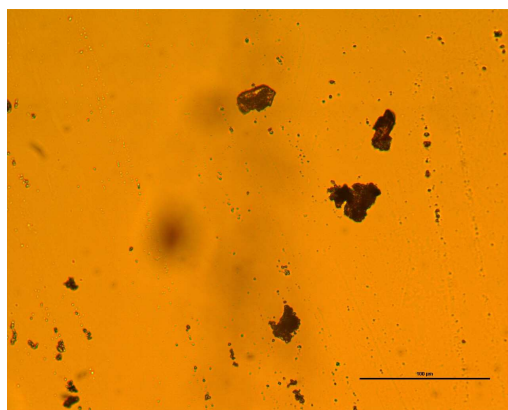
SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic SWCNTs 1100 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.



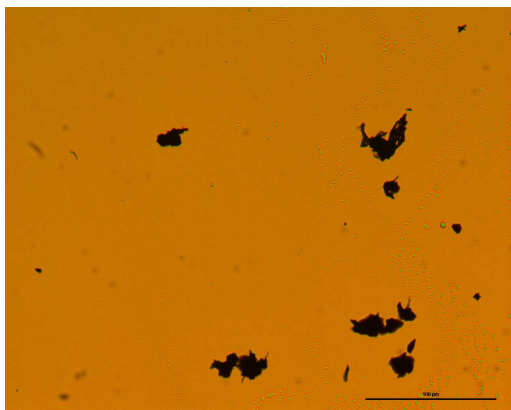
SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3100 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.



SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3101 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.



SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3150 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.



SEM zobrazení uhlíkových nanotrubic MWCNTs 3151 ve směsi chloroformu a ethanolu v poměru 9:1, měřítko 100 μm.